This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

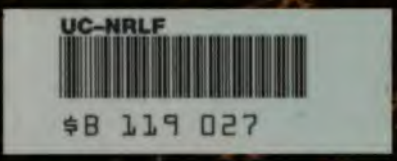
+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

QP
551
S7



BIOLOGY LIBRARY

Studien

über die Albuminoide

mit besonderer Berücksichtigung

des Spongins und der Keratine

von

Dr. Eduard Strauss

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY
OF
CALIFORNIA

* * * * * * * * Heidelberg 1904 * * * * * * * *
Carl Winter's Universitätsbuchhandlung

QP551
S7

BIOLOGY
LIBRARY

CROCKER

Alle Rechte, besonders das Recht der Übersetzung in fremde Sprachen, werden vorbehalten.

Seinem verehrten Lehrer,

Herrn Obermedizinalrat

Hofrat Prof. Dr. A. Hilger

in München

gewidmet

vom Verfasser.

Vorliegende Arbeit betrachte ich als Einleitung und ersten Teil einer größeren Reihe von Studien über die Albuminoide. Äußere Gründe veranlassen mich, dieselbe in dieser Form bereits zu publizieren.

München, im Juli 1904.

Eduard Strauss.

Inhalt.

	Seite
Einleitung	1
Die Albuminoide der Evertebraten	4
1. Das Spongin	4
2. Das Cornein und das Gorgonin	11
3. Das Onuphinalbuminoid und das Spirographin	15
4. Das Conchiolin	17
5. Der Byssus	21
6. Die Seide	23
Die Albuminoide der Vertebraten	29
1. Das Collagen und der Leim	29
2. Das Reticulin	42
3. Das Elastin	44
4. Die Albumoide, Keratinoide und Keratoelastine	51
a) Das Albumoid der Linse	51
b) Die Membranine des Auges	52
c) Das Sarcolemm, die Schwannsche Scheide, die Membranae propriae, die Chorda dorsalis	53
d) Das Albumoid des Knorpels	54
e) Das Ichthylepidin	54
f) Elastoidin und Keratinoid	55
g) Die Keratoelastine	56
5. Die echten Keratine, das Neurokeratin und das Ovokeratin	58
Experimentelle Studien	69
1. Die Methode der Untersuchung	69
2. Das Spongin	74
Die Sponginosen	78
Ergebnisse der Sponginuntersuchung	93
3. Das echte Keratin	98
Die Keratinosen	99
4. Das Ovokeratin	104
Die Ovokeratinosen	105
Ergebnisse der Keratinuntersuchung	107
Schlußbemerkungen	111
Analytische Belege	113
Alphabetisches Literaturverzeichnis	120

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Einleitung.

Überblickt man die gesamte Literatur über die «Albuminoide», so wird man erstaunt sein, nirgends eine scharfe Definition dieser Gruppe eiweißähnlicher Körper zu finden. Zumeist beschränken sich die Autoren unserer physiologisch-chemischen Lehrbücher und Kompendien auf die Angabe, daß die unter diesem Namen angeführten Stoffe «wichtige Bestandteile des tierischen Gerüstes oder der tierischen Hautgebilde» sind *(Hammarsten)*. Fügt man weiter hinzu, daß die Albuminoide sich gegenüber Verdauungs-Fermenten und chemischen Agentien sehr widerstandsfähig zeigen, so sind die Punkte allgemeiner Übereinstimmung vollzählig. Eine Einteilung, wie sie *Drechsel* vorgenommen hat, welcher den Namen «Albuminoide» auch auf die nativen Eiweißkörper und deren Spaltprodukte ausdehnte und die hier in Frage kommenden Substanzen als «Albumoide» bezeichnete, kann — abgesehen davon, daß sie sich kaum allgemein eingebürgert hat — schon deshalb nicht aufrecht erhalten werden, weil Drechsel von den «Albuminoiden» die «Glutinoide» unterscheidet, welche keine aromatischen Produkte bei der Zersetzung liefern sollen; zu dieser letzteren Gruppe rechnet er die Leimsubstanzen und das Spongin, an deren Aufbau aromatische Komplexe jedoch unzweifelhaft beteiligt sind, wie dies durch neuere Untersuchungen dargetan worden ist.

Auch *Krukenbergs* Aufstellung einer besonderen Gruppe der «Skeletine» hat neueren Forschungen nicht standgehalten; das von dem genannten Autor unter den Skeletinen mit angeführte Chitin ist überhaupt keine Protein-

substanz und das Fibroin der Seide kann man schwerlich als Skeletin bezeichnen. Bis jetzt fehlen einheitliche Gesichtspunkte, welche uns eine auch nur einigermaßen systematische Anordnung des Stoffes gestatten konnten, vollkommen. Soviel nur steht fest, daß die Albuminoide Produkte einer in jedem einzelnen Falle ganz bestimmten Umwandlung nativer Eiweißkörper sind. Die bisher beobachteten Tatsachen lassen den Schluß zu, daß die Zelle diese Produkte nach Maßgabe der besonderen physiologischen Zwecke unter Auswahl geeigneter chemischer Gruppen des Eiweißmoleküls bildet: es ist gewiß von Bedeutung, daß die meist stark gefärbten Keratine so viel Tyrosin enthalten, während in dem halogenführenden Spongin die nichthydroxylierte aromatische Gruppe bevorzugt ist.

Wenn man auch nicht erwarten darf, durch vergleichende Untersuchung zweier typischer Albuminoide an Hand einer und derselben Methode bereits ordnende Prinzipien für die ganze Gruppe aufzufinden, so ist es doch von einiger Wichtigkeit, mit dem Vergleich einmal zu beginnen und vor allen Dingen zu prüfen, ob sich nicht doch gemeinsame chemische Charakteristika auf der einen, gruppenunterscheidende auf der anderen Seite auffinden lassen.

Die Albuminoide.

Um für die übersichtliche Darstellung der bisherigen Forschungsresultate auf dem Gebiete der Albuminoide ein geeignetes Einteilungsprinzip zu finden, darf man kaum von rein chemischem Standpunkte ausgehen: es ist vielmehr notwendig, wenigstens jetzt noch dasjenige Moment in den Vordergrund der Betrachtung zu stellen, welches — allerdings neben der Unmöglichkeit anderweitiger Klassifizierung — bei der Zusammenfassung der ganzen Gruppe den Ausschlag gab: das physiologische bezw. zoologische. Die Albuminoide sind zumeist Gerüst- und Epidermalsubstanzen; wir haben sie also nach ihrem Vorkommen 1. bei den niederen, 2. bei den höheren Organismen, ferner nach ihrer physiologischen Bedeutung in 1. Stütz-Gewebe-Bildner, 2. chemische Substrate der Epidermis und ihrer Adnexe, 3. Sekrete einzuteilen. — Demnach sollen im weiteren folgende Substanzen näher betrachtet werden.

I. Albuminoide als Gerüstsubstanzen und Sekrete bei den Evertebraten.

1. Das Spongin.
2. Das Gorgonin und Cornein.
3. Das Onuphinalbuminoid und Spirographin.
4. Das Conchiolin.
5. Der Byssus.
6. Die Seide.

II. Albuminoide bei den Vertebraten.

1. Das Collagen.
2. Das Reticulin.

3. Das Elastin.
4. Die Albumoide- und die Übergänge zu den Keratinen.
5. Die echten Keratine; das Neurokeratin; das Ovokeratin.

An Hand dieser Disposition soll es nun zunächst unsere Aufgabe sein, die Untersuchungen, welche bisher an den Albuminoiden angestellt worden sind, eingehend zu schildern.

A. Die Albuminoide der Evertebraten.

1. Das Spongin.

Unter dem «Spongin» versteht man die von allen lebendigen protoplasmatischen Elementen befreite Gerüstsubstanz der Spongien und zwar gilt dieser Name speziell für die Gerüstsubstanz des Badeschwammes, der Euspongia. Wohl kommen auch vereinzelte Angaben über das Skelett von Luffaria, Euchalina, Verongia und Cholinopsis vor, allein die wichtigsten Studien wurden bisher nur an Euspongienmaterial ausgeführt. Das Spongin ist, histologisch betrachtet, eine spezifische Bindesubstanz. Es wird von den Bindezellen, die rings um die entstehende Faser sich epithelartig dicht gruppieren, ausgeschieden. Mit echter Hornsubstanz darf es, wie dies ältere Autoren getan haben, nicht verglichen werden. Die Fasern der Aplysina bestehen aus dem eigentlichen Spongin und außerdem aus einer hyalinen Substanz (nach *K. C. Schneider* «spezifische Marksubstanz»), welche letztere von färbenden Agentien nicht beeinflußt wird, im Gegensatz zum Spongin. Bei Euspongia und Kakospongia sind die Fasern arm an solcher Marksubstanz.

Reinigt man Badeschwämme von den anhaftenden Konkrementen durch Behandlung mit verdünnter Salzsäure und darauffolgender Extraktion mit Wasser, Alkohol und Äther, so hinterbleibt das Spongin — der Name stammt von *Städeler* — als eine helle, gelb bis schwach bräunlich gefärbte, faserige Masse. Dieselbe löst sich in Kali- oder

Natronlauge, nicht aber in Ammoniak; hierbei findet schon in der Kälte eine Abspaltung von Schwefelwasserstoff und Ammoniak statt *(Posselt)*. *Städeler* glaubte, daß das Spongingewebe aus runden soliden Fasern und zarten verfilzten Flocken bestehe, von denen nur die letzteren in 5 %iger Natronlauge löslich seien; diese Angabe wird aber von *Krukenberg* bestritten. Ebenso wie die Alkalien, greift auch Barytwasser das Spongin an; von der Einwirkung gespannter Wasserdämpfe wird noch zu sprechen sein. — *Krukenberg* fand, daß die Sponginfasern unter der Einwirkung einer 1 %igen Kaliumpermanganatlösung der Quere nach zerfallen und schließlich einen feinen Detritus bilden. — In Kupferoxyd-Ammoniak löst sich — entgegen den Angaben *Schloßbergers* — das Spongin nach vorheriger Salzsäurebehandlung auf *(Städeler)*. Konzentrierte Mineralsäuren verändern in der Kälte das Spongin nur langsam; beim Kochen mit konzentrierter Salzsäure zeigt sich keine Blaufärbung (*Posselt*). Die Xanthoproteinreaktion (Übersättigen der salpetersauren Lösung mit Alkali) ist positiv (*Posselts* Beobachtung gegenüber *Krukenberg*), ebenso die Biuretreaktion; dagegen fallen die Reaktionen nach Millon und nach Adamkiewicz negativ aus *(Krukenberg)*.

Von besonderem Interesse ist die Tatsache, daß das Spongin eine ziemlich erhebliche Menge Jod in organischer Bindung enthält. Bereits im Jahre 1819 wurde das Jod in verkohlten Schwämmen nachgewiesen, und es darf hier nicht unerwähnt bleiben, daß schon seit Jahrhunderten der Badeschwamm zur Herstellung eines Spezifikums gegen den Kropf verwendet wird und als solches in die französische Pharmakopöe unter dem Namen «Spongia marina usta» Eingang gefunden hat. *Proust* bestimmte i. J. 1837 den Jodgehalt der Sponginsubstanz zu 1,8 %, *Crookewitt* zu 1,91 % und *Harnack*, letzterer unter möglichster Vermeidung einer Mitbestimmung der anderen Halogene, zu 1,5—1,6 %. Der letztgenannte Autor konnte jedoch in ganz kleinen Schwämmen nur etwa die Hälfte dieser Menge nachweisen, und er schreibt dies dem Umstande zu, daß der Jodgehalt mit dem Alter steigt

und erst ganz allmählich durch Aufnahme des im Meerwasser in großer Verdünnung enthaltenen Jods zu der definitiven Höhe anwächst. Beträchtlich höhere Zahlen für den Jodgehalt der Schwämme fand *Hundeshagen* bei seiner Untersuchung tropischer und subtropischer Spongien.

Nach seinen Angaben enthalten manche Arten von Luffaria, Euchalina, Verongia 8—14 % Jod; demgegenüber ist der Jodgehalt von Euspongia, Cholinopsis und den Aplysiniden des Mittelmeers gering zu nennen. *O. v. Fuerth* sagt in seiner «Vergleichenden chemischen Physiologie der niederen Tiere» über diese enorme Jodmenge:

«Man bekommt eine richtige Vorstellung von diesen «Verhältnissen, wenn man sich vergegenwärtigt, daß besonders «jodreiche Seepflanzen, wie es z. B. die Tange sind, im Mittel «nur 0,13 % Jod enthalten.»

Daß das Jod nur von der Schwammsubstanz aufgenommen und wirklich organisch gebunden wird, geht aus genauen Untersuchungen der anorganischen Konkremente, der sog. Schwammsteine hervor, welche von *Harnack* ausgeführt worden sind. *Harnack* wies in diesen Konkrementen Calcium- und Magnesiumkarbonat, Tonerde, Kieselsäure und Mangan, sowie 1,53 % Eisen nach, konnte aber keine Spur Jod oder Brom entdecken. Er vermutet, daß das Eisen, dessen Menge auffällig ist, nur in den Konkrementen, nicht aber in dem Spongin angehäuft werde, da dessen Asche — 0,35 % — Eisen nur in unwägbaren Spuren enthielt. *Vosmaers* Ansicht, das Jod könne einfach von durchtränkendem Seewasser herrühren, ist sicher unrichtig. Zu erwähnen ist noch, daß ältere Untersucher, wie *Posselt* und *Crookewitt*, in den Schwämmen sehr hohen Aschegehalt vorfanden, 3,5—5,5 %, und daß *Heyl* bei einer Untersuchung der offizinellen Schwammkohle 0,24 % Jodmagnesium bestimmte. — Auch geringe Mengen von Phosphor finden sich im Spongin.

Die prozentische Zusammensetzung des Spongins ist folgende:

Autoren:	C	H	N	S	J	P	O
Posselt:	48,74—49,11	6,25—6 35	15,90—16,4				28,50—28,77
Crookewitt:	47,16	6,31	16,15	0,498	1,079	1,9	
Harnack:	48,51	6,30	14,79	0,73	1,5		

Wie die nativen Eiweißkörper, so gibt auch das Spongin bei der Hydrolyse schließlich kristallisierende Spaltprodukte. *Städeler* reinigte Badeschwämme durch Extraktion mit verdünnter Salzsäure und Natronlauge und zersetzte das Spongin durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure. Aus dem Filtrate der mit Kalkmilch neutralisierten Zersetzungsflüssigkeit kristallisierte Leucin und Glycocoll (als Kupfersalz analysiert), Tyrosin ließ sich jedoch nicht nachweisen. Diesen Befund bestätigte *Krukenberg.*

Zalocastas zersetzte das Spongin unter Anwendung von Barytwasser und Erhitzen unter Druck nach einer Methode von *Schuetzenberger.* Er fand Kohlensäure (3,9 %), Oxalsäure (5,54 %), Essigsäure (3,9 %) und Ammoniak, ferner Leucin, Tyrosin (?), Butalanin, Glycalanin und Leucëinhydrat; doch wird die Sicherheit seiner Trennungsmethode stark angezweifelt.

Glutaminsäure tritt als Spaltprodukt des Spongins, und zwar in beträchtlicher Menge, auf. *Kossel* und *Kutscher* zerkochten Spongin mit konzentrierter Salzsäure, fällten die Hexonbasen durch Phosphorwolframsäure, diese letztere durch Baryt und schließlich den Barytüberschuß durch Schwefelsäure. Im Filtrat wiesen sie Glutaminsäure als Chlorhydrat nach der Methode von *Hlasiwetz* und *Habermann* nach. Aus 100 g Spongin wurden so 15 g Glutaminsäurechlorhydrat gewonnen. — Dieselben Autoren haben die Anwesenheit zweier Hexonbasen, des Arginins (5—6 %) und des Lysins (3—4 %), im Spongin konstatieren können, während Histidin noch nicht aufgefunden wurde. — Auch höhere, noch teilweise Eiweißcharakter tragende Abbauprodukte des Spongins sind dargestellt worden. *Krukenberg* erhitzte gereinigtes Spongin in zugeschmolzenen Glasröhren 24 Stunden auf 170 °C. Dabei trat Verflüssigung ein, die Lösung zeigte «mehr oder weniger starke» Alkaleszenz und gab beim Zusatz von Salz-

säure ein Neutralisationspräzipitat, von dem der Autor behauptet, es stelle ein Gemenge aus einem Alkalispongin (?) und aus Produkten hochgradiger Zersetzung dar, welche letztere «keine Eiweißreaktionen gaben und durch Hitze tiefgreifend veränderten Zuckerstoffen glichen». — Die vom Neutralisationsniederschlag abfiltrierte Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahiert (aus diesem Extrakt hat Krukenberg Harnstoff zu isolieren versucht, jedoch mit zweifelhaftem Gelingen!), der ungelöste Anteil wurde in Wasser gelöst und durch Totalsättigung mit Ammonsulfat gefällt: der Niederschlag, den *Krukenberg* «Spongionose» nennt, war durch Silbernitrat und Bleiacetat, nicht aber durch Quecksilberchlorid und Alaun fällbar. Außer der Biuretreaktion gab er keine Farbenreaktion der Eiweißkörper. *Krukenberg* glaubt, daß der eingangs erwähnte Körper, den er «Alkalispongin» nennt, eine Vorstufe dieses albumoseartigen Spaltproduktes sei, und gibt an, eine ähnliche «Vorstufe» durch Einwirkung von Barytwasser auf das Spongin erhalten zu haben. — Durch Pepsinwirkung soll die Spongionose in Sponginpepton übergehen, welches nur noch durch Gerbsäure, Phosphormolybdänsäure und basisches Bleiacetat fällbar ist. Weitere Angaben über diese Produkte — die übrigens in die physiologisch-chemische Literatur kaum Eingang gefunden haben — fehlen; nicht einmal Elementaranalysen werden angegeben. Von Interesse dürfte es noch sein, daß *Krukenbery* bei Behandlung des Spongins mit überhitztem Wasser die Anwesenheit von Brenzcatechin konstatiert und einen intensiven Karamelgeruch wahrgenommen hat, was beides auf das Vorhandensein eines Kohlehydrates schließen läßt.[1]

Die Behauptung jedoch, die Gerüstsubstanz der Chondrosia reniformis sei auf Grund ihres hohen Zuckergehaltes nicht Spongin, sondern ein «Hyalogen», ist durch eine ein-

[1] *Cohnheim* führt in seiner «Chemie der Eiweißkörper» an, nach Krukenberg enthalte das Spongin kein Kohlehydrat. Ich habe die Arbeit, der diese obigem widersprechende Ansicht entnommen ist, nicht auffinden können.

fache quantitative Nachprüfung von *O. v. Fuerth* widerlegt worden.

Hundeshagen hat versucht, einen jodhaltigen Komplex aus dem Spongin abzuspalten, indem er es in Kalilauge, Barytwasser und Ammoniak löste, genau neutralisierte und sodann mit einem Überschuß von Silbernitrat fällte; er erhielt ein «organisches jodhaltiges Salz», über welches er aber ebensowenig genauere analytische oder reaktionelle Angaben macht, wie über die «eigentümlich riechenden Jodverbindungen unbekannter Art», unter denen er Jodamidofettsäuren und Jodtyrosin vermutet. Die letztere, völlig unbewiesene Angabe ist auffallenderweise sowohl in das vortreffliche Kompendium *O. v. Fuerths* als auch in *Fr. N. Schulz'* Schrift über die «Größe des Eiweißmoleküls» übergegangen.

Entschieden von größerer Bedeutung, als die vorstehend geschilderten Versuche, ist eine Arbeit *E. Harnacks* über das sogenannte «Jodospongin», welches bisher als die eigentliche jodführende Gruppe des Spongins gilt.

Da eine Zersetzung der Schwämme mit Wasser unter 2—3 Atm. Druck zu einer völligen Zerstörung der jodhaltigen Substanz führte, und da ferner die Behandlung mit kalter 15 %iger Kalilauge keine genügenden Ausbeuten ergab, ließ Harnack 38 %ige Schwefelsäure (S. G. = 1,29) 8 Tage lang in der Kälte, d. h. bei Zimmertemperatur etwa, auf das Spongin einwirken. Nach Ablauf dieser Zeit hatte sich die Substanz bis auf eine feine verteilte Masse von pulvriger Beschaffenheit gelöst. Diese wurde abfiltriert, in verdünnter Natronlauge gelöst und in verdünnter Schwefelsäure filtriert; nach nochmaliger Lösung und Fällung wurde die Substanz in Ammoniak gelöst, durch Ammonsulfatsättigung ausgesalzen und dialysiert. *Harnack* beobachtete, daß bei dieser Prozedur die Zersetzungsflüssigkeit «noch ziemlich viel organische Jodverbindung» enthält. Das so gewonnene Produkt sieht, frisch gefällt, hell aus, wird aber beim Trocknen, selbst im Vakuum, bald braunschwarz. Es ist in Alkohol unlöslich, in Alkalien, wie bereits beschrieben, leicht löslich und aus dieser Lösung durch Säuren wieder fällbar — «wenn

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

auch nicht ohne Verluste»; es ist ferner durch Ammonsulfat aussalzbar, nicht diffusibel und besitzt also eiweißartige physikalische Eigenschaften. Die Probe nach Millon ist unsicher, die Probe nach Molisch, Adamkiewicz und die Biuretprobe negativ, dagegen ist der Ausfall der Schwefelbleiprobe positiv. Durch mehrstündiges Kochen mit verdünnter Schwefelsäure soll das Jod, welches die Substanz in einer Menge von 8,2 % enthält, sehr allmählich abgespalten werden. Merkwürdig ist, daß beim Schmelzen mit Alkali keine anorganische Jodverbindung entstehen soll, und daß das Jod erst beim Kochen konzentrierter Schwefelsäure nachweisbar wird.

Die analytischen Daten sind folgende:

C 45,01 H 5,95 N 9,62 S 6,29 J 8,20.

Da der außerordentlich hohe Schwefelgehalt vermuten ließ, daß durch die Einwirkung der starken Schwefelsäure Sulfogruppen in das Molekül eingetreten sein könnten, ersetzte *Harnack* bei der Hydrolyse die Schwefelsäure durch rohe Salzsäure. Er erhielt eine geringe Ausbeute eines Präparates, welches nur noch ca. 4,7 % Schwefel enthielt. Sonstige analytische Angaben über dieses letztere Produkt fehlen; Harnack berechnet aus dieser Schwefelbestimmung, daß ein Atom Schwefel durch die Schwefelsäurebehandlung eingeführt worden sei, und gibt nun dem «Jodospongin» die Bruttoformel:

$$C_{56}\,H_{87}\,JN_{10}\,S_2\,O_{20}$$

Nach Harnacks Angabe soll auch *Baumann* ein ganz ähnliches Produkt aus dem Spongin gewonnen haben. Die Untersuchungen des Letzteren scheinen jedoch, da sie durch den Tod dieses Forschers unterbrochen wurden, nicht zur Veröffentlichung gelangt zu sein.

Indem Harnack die Analysenwerte seines Jodospongins mit den für das Ausgangsmaterial gefundenen verglich, kam er zu dem Schlusse, «daß das Jod nur von den schwefelhaltigen Atomgruppen der organischen Substanz des Schwammes aufgenommen wird . . . . Diese schwefel- und jodhaltigen Gruppen bilden dem Gewicht nach etwa $^1/_6$ des gesamten ursprünglichen Moleküls.»

Harnack hat dann noch das Vierfache des Jodospongins mit der empirischen Formel für *Hofmeisters* künstliches Jodalbumin verglichen und dabei als augenfällige Unterschiede den geringeren Stickstoff- und den bedeutend größeren Schwefelgehalt festgestellt.

Hofmeisters Jodalbumin: $C_{227} H_{370} J_4 N_{58} S_2 O_{78}$
Harnacks Jodospongin: $C_{224} H_{348} J_4 N_{40} S_{80}$.

Von Bedeutung ist ein pharmakologischer Vergleich des Jodospongins mit dem von *Baumann* aus der Schilddrüse dargestellten Jodothyrin: *Harnack* fand, daß ersteres bei Hunden nach Exstirpation der Thyreoidea einen deutlichen Einfluß anf die strumipriven Symptome (akute Abmagerung, Störungen des Nerven- und Muskelsystems etc.) ausübte.

Analog dem Verfahren, welches *Schmiedeberg* zur Gewinnung der Melanoidinsäuren aus Eiweißstoffen anwandte, hat *Rosenfeld* gearbeitet, um einen jodhaltigen Komplex aus dem Spongin zu isolieren. Er zerkochte gereinigte Badeschwämme 8—10 Stunden lang mit 12 %iger Salzsäure und erhielt dadurch braune Flocken, welche durch Lösen in Alkali und Fällen mit Säure gereinigt wurden. Diese Substanz, welche er «Spongomelanoidin» nennt, zeigte ähnliche Eigenschaften, wie *Harnacks* Jodospongin, allein die Analysenwerte differieren nicht unbeträchtlich:

C 50,62 H 6,53 N 12,3 J 4,86 S 0,98.

Das Präparat ist also stickstoff- und kohlenstoffreicher, besitzt etwas mehr als die Hälfte der für Jodospongin gefundenen Menge Jod, ist aber im Vergleich zum Jodospongin schwefelarm zu nennen. — Bemerkenswert ist, daß dieser Körper um ca. 2,5 % mehr Kohlenstoff enthält als das Ausgangsmaterial.

2. Das Corneïn und das Gorgonin.

«Corneïn» nennt man nach *Valenciennes* die hornige Grundsubstanz der Korallen. Man stellt dieselbe nach *Krukenberg* dar, indem man die Achsenskelette der Korallen (Ripidogorgia flabellum, Gorgonia verrucosa, Anthipathes etc.)

mit verdünnter Salzsäure entkalkt, dann mit Alkohol, Äther, Pepsin, Trypsin, 10—20 %iger Natronlauge behandelt und schließlich mit Wasser auswäscht. *Krukenberg* zerkochte das so gewonnene Corneïn mit verdünnter Schwefelsäure, wobei es vollständig in Lösung ging. Aus der Zersetzungsflüssigkeit kristallisierte ein Produkt aus, welchem der genannte Autor den Namen «Cornikristallin» beilegte, ohne es jedoch näher zu charakterisieren: wir wissen nur, daß es in konzentrierter Schwefelsäure unlöslich ist, und es liegt die Vermutung nahe, daß das «Cornikristallin» trotz der vorangegangenen Reinigung doch nur eine organische Substanz ist. Die Lösung enthielt weiterhin noch Leucin, vielleicht auch Glycocoll, kein Tyrosin und kein Kohlehydrat. Die Angaben *Krukenbergs* über das Auftreten von Indol bei der Kalischmelze widersprechen sich an zwei Stellen (vergl. *v. Fuerth* l. c. pag. 449, Anm.). Das Corneïn löst sich bei längerem Kochen auch in Natronlauge; mit Wasser unter Druck erhitzt soll es albumoseartige Produkte bilden. Wichtiger als diese spärlichen Angaben *Krukenbergs* sind die Untersuchungen *Drechsels* über das Gorgonin, die albuminoide Substanz in dem Gerüste der Gorgonia Cavolinii, einer roten Weichkoralle. Hier ist der sehr hohe Jodgehalt bemerkenswert. *Schloßberger* hat zuerst auf den Jodgehalt der Korallen aufmerksam gemacht. Genau wie die Schwämme, wurde früher auch die Korkkoralle, Alcyonium Digitatum, geröstet als Spezifikum gegen den Kropf angewandt (*Harnack* l. c.). *Drechsel* bestimmte den Jodgehalt von Gorgonia Cavollinii zu 7,89 %. Er fand, daß beim Zerkochen der Gorgoniastämmchen mit Salzsäure 1:1 Jod in großen Mengen frei wird und sich im Rückflußkühler kondensiert. Als nach 70-stündigem Erhitzen die Jodentwickelung aufgehört hatte, wurde die Lösung mit Zinnchlorür gefällt, das Zinn durch Schwefelwasserstoff abgeschieden und mit Phosphorwolframsäure die Hexonbasen ausgefällt. Um diese zu isolieren, wurde nun der Niederschlag mit Barytwasser in heißer ammoniakalischer Flüssigkeit zerlegt und eingedampft. Das aus dieser Lösung gewonnene «Lysatinin» dürfte wohl als Gemenge von Arginin

und Lysin (vergl. *Hedin*) aufzufassen sein. Ferner wies *Drechsel* Leucin und Tyrosin nach. — Um eine jodhaltige Verbindung aus dem Gorgonin zu gewinnen, ging *Drechsel* so vor, daß er das Material mit konzentriertem Barytwasser kochte, das Filtrat durch Kohlensäure barytfrei machte, mit Silbernitrat fällte und den dunkelgefärbten Niederschlag in kalter Salpetersäure löste. Aus der von Jod- und Schwefelsilber abfiltrierten Lösung fiel auf Zusatz von Ammoniak eine jodhaltige organische Silberverbindung heraus, welche mit Salzsäure zerlegt und durch Alkoholäther gefällt, ein weißes Produkt lieferte, dem *Drechsel* den Namen «Jodgorgosäure» gab.

Drechsel berechnete aus einer unvollständigen Analyse (s. später) eine Formel $C_4H_8NJO_2$ und glaubte, in der Jodgorgosäure eine Jodamidobuttersäure in Händen zu haben.

Diese Resultate *Drechsels* sind nicht ohne Anfechtung geblieben. *Lafayette Mendel* hat zuerst versucht, nach der oben geschilderten Methode aus Gorgonia flabellum — die nur 1,5 % Jod enthält — Jodgorgosäure zu gewinnen, jedoch ohne Erfolg. Ob dies lediglich dem an und für sich geringen Jodgehalt westindischer Korallen zuzuschreiben ist, bleibe dahingestellt. Eine erneute Untersuchung an demselben Material, wie es Drechsel vorgelegen hatte, mußte über die merkwürdige Säure genaueren Aufschluß erteilen. In dieser Richtung liegt nun eine eingehende Studie von *Henze* vor, welcher Drechsels Angaben nachgeprüft hat. *Drechsel* hat von seiner Säure nur eine Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung gemacht, und die Jodbestimmung differiert um 3 % von dem berechneten Jodgehalte einer Jodamidobuttersäure. Ehe wir die Ergebnisse, zu denen *Henze* gelangt ist, darstellen, sei hier die Elementarzusammensetzung des Corneïns und Gorgonins gegeben.

	Gorgonia.	Rhipidogorgia flabellum	Gorgonia verrucosa	Anthipathes[1]
C.	49,4	48,92—48,96	48,86—49,18	48,86
H.	6,3	5,68—5,93	5,80—5,83	6,26
N.	16,8	17,6	16,76	16,60
J.	—	—	—	—
Cl.	—	—	—	—
S.	—	—	—	—

	Gorgonia Cavolinii
C.	49,4
H.	6,8
N.	17,2
J.	7,8
Cl.	2,2
S.	2,32 (nach *Henze*).

Drechsel hat das Gorgonin den Keratinen an die Seite gestellt und *Henze* glaubt, dies durch die von ihm gefundene hohe Schwefelzahl bestätigen zu können. *Henze* hat nun zwei Wege eingeschlagen, um zu tieferen Spaltprodukten des Gorgonins zu gelangen, und zwar 1. die Hydrolyse mittels verdünnter Schwefelsäure, wobei auf die Entstehung der Hexonbasen besonders geachtet wurde, und 2. die Spaltung mit siedendem Barytwasser, welche eventl. zur Jodgorgosäure führen mußte. Bei letzterer Prozedur beobachtete der genannte Autor, daß das Gorgonin bereits nach 1—1½ Stunden bis zu den Aminosäuren zersetzt war. — Bei der Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure (1:2) löste sich das Material zu einer tief schwarzbraunen Flüssigkeit, es entwickelte sich Schwefelwasserstoff, Jod wurde in großen Mengen frei, Jodwasserstoff war nachweisbar, auch flüchtige Jodverbindungen traten, dem Geruch nach zu urteilen, auf (Jodoform?). Die Lösung, auf einen Säuregehalt von 5 % gebracht, wurde mit Phosphorwolframsäure gefällt. In dem hierbei entstehenden Niederschlag gelang der Nachweis von Arginin, Histidin und Lysin. — Ebenso fanden sich kleine Mengen einer jod-

[1] Diese Analysen sind nach *v. Fuerth* (vergl. chem. Phys.) zitiert.

haltigen Substanz, ferner etwas Tyrosin und vielleicht Phenylalanin. —

Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag enthielt Tyrosin, wenig Leucin — auch dies deutet auf den Keratincharakter hin —, dagegen kein Glycocoll, Cystin, keine Asparagin- oder Glutaminsäure. Bei der Zersetzung des Gorgonins mit Barytwasser kam es *Henze* hauptsächlich auf die genauere Charakterisierung der Jodgorgosäure an. Er fand unter Anwendung der von *Drechsel* ausgearbeiteten, etwas modifizierten Methode zuerst einen in langen, glashellen Prismen kristallisierenden Körper, der 2,55 % Chlor enthielt, und weiterhin ein Produkt, welches lanzettförmige, lang zugespitzte Krystalle bildete, bei 205° unter spontaner Zersetzung schmolz, sich in Alkalien löste und mit Säuren wieder ausfiel und zwar unter Bildung von Salzen der Mineralsäuren. Die Xanthoproteinreaktion fiel positiv aus, und es ist demnach — was übrigens auch aus den analytischen Daten hervorgeht — höchst wahrscheinlich, daß die Jodgorgosäure (diese muß wohl der von *Henze* gefundene Körper sein!) gar keine Jodaminobuttersäure, sondern eine aromatische Säure darstellt. Die Millonsche Reaktion fällt negativ aus, doch dies beweist bei halogensubstituierten Substanzen nichts gegen die Anwesenheit von Tyrosin *(Blum* und *Vaubel)*.

Die Analysen ergaben folgende Werte:

	Drechsel	*Henze.*
C.	20,99	—
H.	4,04	—
N.	—	3,78
J.	52,46 (ungenau!)	57,32.

Schließlich entstanden bei der Zersetzung mit Baryt Tyrosin und Glycocoll in großer Menge. — Eine Kohlehydratgruppe scheint dem Gorgonin zu fehlen. —

3. Das Albuminoid des Onuphins und das Spirographin.

Eine Albuminoidsubstanz findet sich nach *Schmiedebergs* Untersuchungen in den Wohnröhrchen eines Röhrenwurms,

Onuphis tubicola. Ob diese Wohnröhrchen, welche kleinen Federkielen ähnlich sehen, als erhärteter Teil der Oberhaut, oder als Produkt sog. Knäueldrüsen anzusehen sind, steht dahin. *Schmiedeberg* hat nun gezeigt, daß die Röhren zum größten Teil aus einem kohlehydratartigen Körper, dem Onuphin, bezw. dessen Calciummagnesiumphosphathydrat ($C_{24}H_{43}NO_{18} + CaHPO_4 + 4MgHPO_4 + 22H_2O$) bestehen, und zwar enthalten die lufttrockenen Onuphisröhrchen 42,39 % organische Substanz, wovon 38,53 % auf Onuphin entfallen. Die übrigen 3,84 % werden von einem Albuminoid gebildet, welches Salzsäure und Kalilauge gegenüber resistent ist, in Form von Lamellen einer lockeren, papiermachéartigen hellgrauen Masse erhalten wird und positive Biuret-, Xanthoprotein-, Millon- und Schwefelbleiprobe gibt. Eine reduzierende Substanz wurde aus diesem Albuminoid durch Säurespaltung nicht erhalten. Quantitativ bestimmt ist nur

C = 45,35 %
H = 6,60 %.

Auch die Röhren von Spirographis Spalanzanii bestehen nach *Schmiedeberg* aus einem albuminoiden und einem onuphinartigen Bestandteil. *Krukenberg* gewann aus den Spirographisröhrchen eine Substanz, die er «Spirographin» nennt. Dieselbe war durch Trypsin nicht verdaulich, lieferte beim Zerkochen mit verdünnter Schwefelsäure Leucin, Tyrosin und eine reduzierende Verbindung und bei der Kalischmelze Indol. Die Analyse der reinen Substanz ergab:

C	46,12 %
H	9,11
N	9,08
S	7,08—7,85.

Des hohen Schwefelgehaltes wegen liegt es nahe, an eine gepaarte Schwefelsäure nach Art der Chondroitinschwefelsäure zu denken *(Fuerth)*. Eine weitere, aus der alkalischen Lösung der Röhren durch Neutralisation gewonnene Substanz, das «Spirographein», lieferte beim Erhitzen mit Wasser unter

Druck auf 160—170° albumoseartige (Atmidalbumosen?) Produkte und Brenzcatechin. Demnach beweisen auch *Krukenbergs* Versuche die Richtigkeit der oben erwähnten Ansicht *Schmiedebergs* und die Polemik des ersteren gegen dieselbe dürfte deshalb gegenstandslos sein. — Eine eingehende Untersuchung der geschilderten Albuminoide der Würmer wäre sehr wünschenswert, um eventuelle Zusammenhänge zwischen der Bildung resistenter Gerüstsubstanzen aus Kohlehydraten und aus albuminoiden Substanzen aufzuklären.

4. Das Conchiolin.

Nachdem zuerst *Frémy* mit dem Namen «Conchiolin» die Gerüstsubstanz der Muschelschalen bezeichnet hat, wird heute diese Bezeichnung auf die eiweißartigen Substanzen der Molluskenschalen ganz allgemein ausgedehnt.

Dargestellt wird das Conchiolin nach *Wetzel* in folgender Weise: man entkalkt die Muschelschalen mit verdünnter Salzsäure und behandelt nacheinander mit verdünnter Natronlauge, Pepsin, Trypsin, Alkohol und Äther.

Daß das Conchiolin keinen Zusammenhang mit dem Chitin besitzt, sondern den Eiweißkörpern nahesteht, schloß bereits 1845 *Schmidt* aus dem Umstand, daß er in den organischen Residuen der Muschelschalen nach der Behandlung mit verdünnter Mineralsäure 15—15,5% Stickstoff fand.

Kost beobachtete an der organischen Grundsubstanz ihre Unlöslichkeit in Alkali, worin sie selbst beim Erwärmen nicht verschwand. Daß das alte Conchiolin einen hohen Grad von Resistenz gegenüber Alkalien besitzt, beobachtete auch *Voit;* doch konnte er feststellen, daß junges Conchiolin sich in Laugen leicht löst. Gegenüber siedenden verdünnten Mineralsäuren ist Conchiolin weniger widerstandsfähig; heiße konzentrierte Essigsäure greift das Material nicht an *(Kost, Schloßberger).*

In überhitztem Wasser ist das Conchiolin schwer löslich, eine Umwandlung in Leim findet hierbei nicht statt *(Frémy,*

Krukenberg). Über die Löslichkeit in konzentrierten Mineralsäuren macht *Kost* folgende Angaben:

Es verhalten sich:

	a) Die Kalksäckchen- und Epidermisschicht zusammen:	b) Die Perlmutterschicht:
in konz. Salzsäure:	hellbraune Lösung	farblose Lösung
in konz. kalter Schwefelsäure:	grüne, dann schwärzliche Färbung	gelbe Lösung
in konz. kochender Schwefelsäure:	Lösung und Schwärzung	— — —
in konz. Salpetersäure:	braune Lösung	gelbe Lösung.

Alle diese Lösungen geben nach der Neutralisation durch Ammoniak Niederschläge mit Gerbsäure.

Schloßberger unterschied in dem von der verdünnten Salzsäure ungelöst bleibenden Schalenteil, nach dem Aufschlemmen mit Wasser, zweierlei Substanzen: 1. braune, derbe, etwas durchscheinende Häute, die nach dem Waschen und Trocknen graugelb erscheinen, ziemlich kohärent und fast undurchsichtig sind, und 2. weißgraue, schleimige Flocken. Den ersteren Anteil untersuchte *Schloßberger* genauer und fand ihn in überhitztem Wasser, auch bei längerem Behandeln, unlöslich, ebenso in kalter und kochender Essigsäure und verdünnten Mineralsäuren. Beim Kochen mit konzentrierter Salzsäure trat braune Lösung, aber keine Blaufärbung auf; diese letztere hat jedoch *Voit* beobachtet. *Schloßberger* konstatierte, wie auch *Voit*, die Gelbfärbung der Substanz durch warme Salpetersäure. Die braune Substanz versuchte nun *Schloßberger* in Kalilauge von 50% zu lösen; hierbei zeigte sich, daß etwa die Hälfte nur in Lösung ging. Der unlösliche, noch immer bräunlich gefärbte Anteil zeigte einen Stickstoffgehalt von 16—16,7%, einen Kohlenstoff-Wasserstoffgehalt von 50,7%, bezw. 6,5%. Der in Kalilauge lösliche Teil des Conchiolins war aus der dunkeln

Flüssigkeit mit Säuren fast nicht fällbar; auch auf Zusatz von Ferrocyankali-Essigsäure entstand nur ein unbedeutender Niederschlag. — Über die oben erwähnten weißen Flocken konnte *Schloßberger* nur aussagen, daß sie sich beim Kochen mit starker Kalilauge gelb, dann brauner färbten und schließlich fast völlig auflösten.

Zu den allgemeinen Reaktionen des Conchiolins ist noch zu bemerken, daß es — wie auch seine in alkalischer Lösung sich findenden Albumosen — die Biuret- und die Millonsche Reaktion gibt; die Schwefelbleiprobe fällt negativ aus. In bezug auf die anorganischen Bestandteile der Muschelschalen sei auf *Schloßbergers* ausführliche Darlegungen verwiesen. — *Voit* fand im Conchiolin Eisen.

Die von den verschiedenen Autoren ausgeführten Elementaranalysen haben ergeben:

Autor	Material	C	H	N	S
Kost	Perlmutterhaut der Austern	49,80	6,4	—	—
Frémy	Muschelschalen	50,0	5,9	17,5	—
Schloßberger	Austernschalen	50,7	6,5	16,7	—
Voit	Perlmuschelschalen	—	—	15,92	—
Wetzel	Schale von Pinna nobilis	52,87	6,54	16,6	0,85
Wetzel	Schale von Mytilus edulis	52,3	7,6	16,4	0,65

Wetzel, welcher nach *Hausmanns* Methode die Stickstoffverteilung im Conchiolin untersuchte, fand von den 16,6% N des Conchiolins (Pinna nobilis) 3,47% als leicht abspaltbarer Ammoniakstickstoff und 8,66% als Diaminostickstoff. Der genannte Autor hat auch die kristallisierten Spaltprodukte des Conchiolins eingehend studiert. Er zerkochte dasselbe mit verdünnter Schwefelsäure und wies Tyrosin, Leucin und Glycocoll nach, sowie eine reduzierende Substanz in geringer Menge.

Sehr gering sind unsere Kenntnisse über die Eikapseln einiger mariner Schnecken (Murex trunculus, Buccinum undatum, Purpura Capillus), von denen *Krukenberg* behauptet, sie bestünden aus reinstem Conchiolin. *Krukenberg* stellte diese organische Grundsubstanz dar, indem er die Eikapseln mit verdünnter Salzsäure, Alkohol, Äther, Pepsin, Trypsin, starker Natronlauge — es soll eine keratinöse Kittsubstanz vorhanden sein — und schließlich mit Wasser behandelte. Der so gewonnene Rückstand ist in kalten konzentrierten Mineralsäuren unlöslich und nur schwer löslich in niederer konzentrierter Kalilauge. Beim Erhitzen mit Wasser auf 170° unter Druck sollen sich albumoseartige Produkte bilden.

Die Xanthoproteïnreaktion und die Millonsche Probe sollen nach *Krukenberg* fehlen, nach *W. Engel* jedoch vorhanden sein. Als Spaltprodukt wurde Leucin nachgewiesen.

Die Analysen der Substanz ergaben:

	Krukenberg:	*Engel:*
C	50,7—51,2	51,9
H	6,7— 7,0	7,5
N	17,7—17,9	16,1
S	—	0,4—0,5.

Ob wir es nun hier mit einem Conchiolin, oder einem selbständigen Albuminoid zu tun haben, ist aus diesen Angaben nicht ersichtlich.[1] Es ist jedenfalls durchaus unstatthaft, aus solchen Daten Anhaltspunkte für die Aufstellung einer bestimmten Gruppe gewinnen zu wollen, wie dies *Krukenberg* getan hat. Dieser Autor zählte das Conchiolin unter seinen «Skeletinen» auf, weil er es für schwefelfrei hielt. Schon in der Einleitung ist auf die Unhaltbarkeit dieser Gruppe hingewiesen worden, und *O. v. Fuerth* sagt mit Recht, daß «es hohe Zeit ist, mit derartigen verschwommenen Begriffen aufzuräumen».

[1] Über die Grundsubstanzen anderer Eihüllen der Evertebraten und Vertebraten vergl. auch später Gesagtes.

5. Der Byssus.

Der Byssus ist die Substanz, mit welcher sich die Acephalen an Fremdkörper anheften; er findet sich bei vielen Muscheln im Jugendzustande, bei einigen (Pinna Mytilus, Pecten, Tridacna) auch im Alter. Modiola vestita zeigt sich vom Byssusgewebe vollständig umgeben. Nach *P. Fischer* soll der Byssus auch der Fortbewegung dienen; er beobachtete einen Pecten varians, der mit Hülfe von 60 Byssusfäden in Zeiträumen von acht Tagen 60 cm an der Glaswand des Aquariums emporkroch. *O. v. Fuerth*, nach dessen mehrfach erwähntem Werke ich dies zitiere, bemerkt dazu, daß ein solcher Bewegungsmodus jedenfalls die Möglichkeit einer Verkürzung seitens der Fäden voraussetze.

Der Byssus entsteht offenbar als Sekret einer Byssusdrüse.

A. Müller beobachtete, daß an den Wandungen der Furche, welche an der unteren Fußfläche vieler Acephalen verläuft, echte Drüsenkörner auftreten; er nahm deshalb das Vorhandensein einer Byssusdrüse an. Nach sich widersprechenden Befunden von *Joh. Müller* und von *Wagner* fand endlich *Leydig* die Drüse tatsächlich bei Lithodomus vor. Der Grund der Grube, aus welcher der Byssus hervorgeht, zeigt eine Menge dichter, aufrechtstehender, weicher Lamellen, und in ähnlichen Lamellen endigt die Wurzel des Byssus selbst. «Bei der Sekretion wird die Fußspitze der Byssusdrüse genähert, das Sekret einer daselbst gelegenen Drüse mit demjenigen des erstgenannten Organs vereinigt, und der Byssusfaden durch die Furche des Fußes hindurchgezogen» (*v. Fuerth* nach *Hajek*, Handb. der Zoologie, Bd. 3).

Nachdem *Lavini* und *Scharling* einige wenige sich widersprechende chemische Angaben gemacht hatten und *Leuckart* die Identität des Byssus mit dem Chitin behauptet hatte, unterwarf *Schloßberger* den Byssus von Pinna nobilis einer eingehenderen Untersuchung. Er fand, daß der Byssus nach einstündigem Kochen mit Wasser unter sechs Atmosphären Druck brüchiger geworden war; die Flüssigkeit war nicht leimhaltig, gab aber mit Gerbsäure eine reichliche Fällung.

Diese Fällung bestand offenbar aus einem Atmidkörper; es wird bestimmt zukünftigen Untersuchungen, welche von diesen — bisher schon mehrfach erwähnten Beobachtungen — ausgehen, gelingen, solche Produkte und auch wirklich albumoseartige Substanzen zu einer Charakteristik der albuminoiden Körper heranzuziehen.

Kaltes Wasser, Alkohol und Äther lösten nichts von dem Byssus auf. Auch siedende Essigsäure ließ die Fäden unversehrt; aus der Säure konnten nur Spuren einer durch Ferrocyanwasserstoffsäure fällbaren Substanz erhalten werden.

Im Gegensatz zu *Lavinis* und *Scharlings* Beobachtungen fand *Schloßberger* den Byssus in siedender 20%iger Kalilauge nur wenig veränderlich; nur etwas Ammoniak wurde frei. Beim anhaltenden Sieden mit 50%iger Lauge quollen die Fäden auf, Wurzelstellen und deren Kittmasse lösten sich vollkommen, die Kalilauge wurde anfangs gelb, dann braun. Beim Ansäuren mit Mineralsäure wurde Schwefelwasserstoff frei[1], und es bildete sich nur ein geringer flockiger Niederschlag. *Schloßberger* nimmt zur Erklärung von *Lavinis* und *Scharlings* Beobachtung der völligen Löslichkeit in Lauge an, daß diese Untersucher jugendliches Material (d. h. frisch sezernierten Byssus) in Händen hatten.

Verdünnte Mineralsäuren wirkten auf die Byssusfäden kaum ein; beim Kochen mit verdünnter Salzsäure wurden nur die Wurzelteile brüchig, die Fäden selbst färbten sich rötlich; bei zehn Minuten langem Kochen mit starker Salzsäure lösten sich die Fäden nur teilweise unter Dunkelbraunfärbung der Lösung. Starke Schwefelsäure färbt die Fäden lebhaft rot; im Gegensatz zum Chitin tritt aber keine Lösung ein. Mit verdünnter Schwefelsäure unter Druck auf 120° erhitzt, löste sich der Byssus zu einer dunklen Flüssigkeit auf. Starke Salpetersäure färbte die braunen Fäden strohgelb, beim Erwärmen trat Lösung ein, welche durch Wasser nicht, wohl aber nach der Neutralisation durch Gerbsäure,

[1] Wie dies auch *Scharling* feststellte.

auch durch Bleiessig gefällt werden konnte. Jodtinktur färbt die Fäden nicht; nach Schwefelsäurezusatz erschienen sie nicht blau, sondern rotbraun. Gereinigter Byssus zeigte einen Stickstoffgehalt von 13,5—13,9 %. Nach dem Auskochen mit Kalilauge ergaben sich immer noch 12,2—12,6 %, also fast die doppelte Menge, als dem Chitin entsprechen würde. *Schloßberger* verneint daher entschieden *Leukarts* Annahme, daß Byssus und Chitin identisch seien. Wenn dann *Krukenberg* behauptete, daß der Byssus dem Conchiolin nahestehe, so ist auch dies schon auf Grund eines Vergleichs der Stickstoffzahlen zurückzuweisen, da letztere Substanz 16,5 % N aufweist.

Krukenberg fand auch, daß die Millonsche Reaktion, welche der Byssus gibt, nach der Behandlung mit Natronlauge verschwindet.

6. Die Seide.

Die Seide ist ein von Lepidopterenraupen behufs Bildung der Cocons abgesondertes Sekret. Am eingehendsten studiert ist die Seide von Bombyx mori, dem Seidenspinner.

Aus zwei an der Unterlippe des Wurmes mündenden Drüsenschläuchen fließt das Sekret, welches eine viscöse, an der Luft erhärtende Masse darstellt, aus und zwar werden die beiden Ströme nicht vermischt, sondern durch ein zähes Sekret accessorischer Drüsen aneinandergekittet. Der Seidensaft, welchen man als dicke, zähe, bernstein- oder goldgelbe Masse gewinnen kann, wenn man eben im Einspinnen begriffene Raupen aufschneidet, löst sich in kochendem Wasser auf. Durch verdünnte Mineralsäuren wird aus einer solchen Lösung ein Gerinnsel zur Abscheidung gebracht; Gerbsäure, Bleiacetat und Kupfersulfat bewirken gallertartige Niederschläge, Sublimat, Silbernitrat oder Ferrocyanwasserstoffsäure fällen nicht.

Alkalilauge spaltet beim Kochen keinen Schwefel ab *(Ludwig)*. Mazeriert man frische Drüsen mit 15 %iger Pottaschelösung, so erhält man eine Flüssigkeit, die beim Schütteln ein Gerinnsel absetzt; dieselbe Erscheinung tritt auch

unter Luftabschluß ein, besser aber bei Gegenwart von Sauerstoff *(Dubois)*. Beim Eintragen in Alkohol erstarrt der Seidensaft und zeigt nach 20stündiger Extraktion mit kochendem Wasser folgende Zusammensetzung *(Bolley)*:

C . .	47,08
H . .	7,20
N . .	17,70.

Durch Auskochen mit Wasser läßt sich die Seide in zwei Anteile zerlegen: das Fibroin, welches unverändert zurückbleibt, und den Seidenleim (Sericin), welcher in Lösung geht. *Mulder*, dann *Staedeler*, *Vignon* und *Cramer* haben in etwas von einander abweichender Weise das Fibroin dargestellt; das Verfahren des letzteren besteht darin, daß man Rohseide einige Stunden im Autoklaven auf 130° erhitzt, wobei der Seidenleim vollkommen in Lösung geht. Hierzu empfiehlt es sich, Porzellangefäße in Anwendung zu bringen, da das aus Glasgefäßen in Lösung gehende Alkali das Fibroin weiter verändert. Die Ausbeute an Fibroin beträgt 68,5 % der angewandten Rohseide.

Fibroin gibt die Xanthoprotein-, die Millonsche und die Biuretreaktion. Ebenso fallen die Proben nach Liebermann und nach Adamkiewicz positiv aus *(Engel, Krukenberg)*. Beim Kochen mit konzentrierter Salzsäure färbt sich das Fibroin blauviolett; die hierbei entstehende Lösung zeigt eine spezifische Drehung von 39,5°—48,2° *(Vignon)*. Konzentrierte Mineralsäuren lösen mit Leichtigkeit auch bereits in der Kälte; aus der Lösung in konzentrierter Schwefelsäure wird durch Alkali ein weißer, flockiger Niederschlag ausgefällt *(Durrwell)*. Wasser fällt weder aus der Lösung in konzentrierter Schwefelsäure, noch in konzentrierter Salzsäure etwas aus *(Krukenberg)*, trägt man jedoch die letztere Lösung in viel Alkohol ein, so entsteht ein gelatinöser Niederschlag, den *Weyl* als «Sericoin» bezeichnet.

Seine Zusammensetzung ist:

C . . .	48,0 —48,05
H . . .	6,61— 6,72
N . . .	16,12—16,63.

Fibroin löst sich in Essigsäure bei 130—140° und in einigen anderen organischen Säuren bei deren Schmelztemperatur. Die verdünnten Lösungen werden durch Tannin oder durch Kochsalzsättigung gefällt *(Lidow)*.

Ferner löst sich Fibroin mit blauvioletter Farbe in Kupferoxydammoniak, mit gelbbrauner Farbe in Nickeloxydulammoniak *(Schloßberger)*, ebenso in konzentrierter neutraler Chlorzinklösung *(Persoz)*.

Von kalter Kalilauge wird Fibroin wenig angegriffen, dagegen löst es sich in der Wärme darin leicht; bei Säurezusatz, auch beim Verdünnen mit Wasser, werden in solcher Lösung Fällungen hervorgerufen. Wendet man eine konzentrierte alkalische Lösung des Fibroins zur Biuretprobe an, so erhält man eine blutrote Färbung *(Vogel* und *Reischauer)*.

Durch überhitztes Wasser erfolgt Lösung des Fibroins erst bis 160—200°, und zwar bilden sich dabei Albumosen und Peptone (d. h. Atmidkörper!) *(Krukenberg)*.

Vignon und *Sisley* haben Seide nitriert und fanden dabei ein Produkt von folgender Zusammensetzung:

C	46,8	
H	6,5	
N	21,6	(aus Nitrogruppen!)
O	25,1.	

Erwähnt sei noch, daß man Seide von Baumwolle mit Hülfe der Eigenschaft der ersteren, durch Pikrinsäure gelb gefärbt zu werden, unterscheiden kann.

Mit Übergehung älterer Angaben über die kristallisierten Spaltprodukte des Fibroins *(Hinterberger, Staedeler, Crämer, Schuetzenberger, Bourgeois, Silbermann, Weyl, Richardson)* seien hier die Resultate wiedergegeben, zu welchen *E. Fischer* und *A. Skita* bei der Hydrolyse mit 1 : 5 verdünnter Schwefelsäure gelangten.

Sie fanden in 100 Teilen Fibroin:

10 Teile l-Tyrosin,
21 » d-Alanin,
36 » Glycocoll,
1—1½ » l-Leucin,
1—1½ » Phenylalanin,

ferner kleine Mengen Serin und Diaminosäuren.[1] Von letzteren fand auch *Wetzel* bereits Histidin. Von größter Wichtigkeit auch für die allgemeine Erkenntnis des Baues der Eiweißkörper ist ferner ein Befund *E. Fischers*, daß es nämlich bei stufenweisem Abbau gelingt, nacheinander zu zwei verschiedenen Peptonen und schließlich zu einem binären Komplex, dem Glycylalanin, zu gelangen.

Schließlich sei noch angeführt, daß *Krukenberg* durch Zersetzung des Fibroins mit konzentrierter Salzsäure geringere Mengen eines Kupferoxyd reduzierenden Komplexes gewann.

Von den Analysen des reinen Fibroins seien die folgenden angeführt:

Autoren	C	H	N	O
Mulder:	49,1—48,0	6,5	17,6	27,21
Cramer:	48,6	6,4	18,89	26,11
Weyl:	48,24	6,27	17,8	27,69
Vignon:	48,3	6,5	19,2	26,0.

Für die Gewinnung des zweiten Hauptbestandteils der Seide, des Sericins oder Seidenleims, werden verschiedene Methoden angegeben. *Cramer* kochte die Seide mit Wasser aus, fällte die Lösung mit Bleiacetat, entbleite den Niederschlag durch Schwefelwasserstoff und fällte durch Alkoholzusatz ein Sericin von folgender Zusammensetzung im Mittel:

C = 44,32
H = 6,18
N = 18,30.

Mulder hatte dagegen für «Seidengallerte» ganz andere Zahlen gefunden.

[1] Vergl. damit die von *E. Abderhalden* beim Elastin gefundenen Spaltprodukte!

Schloßberger gibt an:

C = 49,49
H = 6,36
N = 19,19.

Bondi, welcher Sericin durch Eindampfen der Extraktionsflüssigkeit, abermaliges Lösen des Rückstandes und Fällen mit Alkohol herstellte, fand die Zahlen:

C = 44,94—45,07
H = 6,24— 6,39
N = 17,12—17,17.

Auch durch Essigsäure kann nach *Bondi* ein reines Sericin ausgefällt werden. *Fischer* und *Skita* erhitzten die Rohseide im Autoklaven auf 118° und dampften dann die wässerige Lösung ein.

Der Seidenleim stellt ein farbloses, in kaltem Wasser quellendes, in heißem leicht lösliches Pulver dar, welches unter verschiedenen Umständen (durch Wärme, Säureeinwirkung, Trocknen im Vakuum) in eine unlösliche Form übergehen kann. Charakteristisch ist, daß seine 10%ige Lösung beim Erkalten zu einer Gallerte erstarrt; diese Fähigkeit wird durch längeres Kochen, auch durch Einwirkung von Essigsäure oder Kalilauge zum Verschwinden gebracht. Gefällt wird die Lösung durch Tannin und Bleiacetat, nicht aber durch Sublimat, Silbernitrat, Eisenchlorid und Kupferacetat. Säuren erzeugen Niederschläge nur bei bestimmten Mengenverhältnissen (*Mulder*, *Cramer*, *Bondi*). *Anderlini* extrahierte die Rohseide mit Wasser bei nur 50—60° und erhielt ein Gemenge von Substanzen, welches er durch verschiedene Schwermetallsalze zu trennen vermochte; er nimmt an, daß der Seidenleim kein einheitliches Produkt sei, und daß er, wenn durch Extraktion in der Siedehitze gewonnen, bereits denaturiert sei. Es wäre gewiß von Interesse, die bei der Extraktion der Seide mit siedendem Wasser unter Druck entstehenden Atmidprodukte sowohl, als auch eventuell echte «Albumosen» eingehender zu untersuchen; besonders zum

Vergleich mit dem echten Collagen hätten solche Versuche einige Wichtigkeit.

Über die durch totale Hydrolyse aus Seidenleim darstellbaren Aminosäuren haben *Fischer* und *Skita* genaue Angaben gemacht. Sie fanden Tyrosin, Leucin, Alanin, Glycocoll, von den Diaminosäuren Lysin und mindestens 4% Arginin und ferner das bereits von *Cramer* dargestellte Serin, die α-Amino-β-Oxypropionsäure.

Sogenannte «wilde Seide» wird gewonnen aus den Cocons von Antherea mylitta (Tussah-Seide) und perenyi, Attacus cynthia und cecropia. Aus der Jama-may-Seide des chinesischen Eichenspinners stellte *Bolley* ein Fibroin und ein Sericin dar, welche ähnliche Zusammensetzung wie die gleichen Produkte aus Bombyx-Seide zeigten. *Bastow* und *Appleyard* jedoch gewannen aus Tussah-Seide ein anderes Fibroin; dasselbe war schwerlöslich in Salzsäure, Salpetersäure, Chlorzink und heißer Natronlauge; seine Zusammensetzung wurde gefunden zu:

C = 47,18
H = 6,30
N = 16,85.

Nach *Schloßberger* gleicht das Spinnengewebe der Seide, indem es auch in Kupferoxydammoniak und Nickeloxydulammoniak löslich ist. Nach *W. Engel* sollen auch die Brutzellendeckel der Wespen aus einem fibroinartigen Stoff bestehen.

Ehe wir zur Schilderung der Albuminoide der Vertebraten übergehen, seien noch in Kürze einige Angaben erwähnt, welche sich auf kaum näher studierte albuminoidartige Substanzen der Evertebraten beziehen.

Tichomiroff analysierte das «Keratin» des Chorions von Bombyx mori, ein Produkt des Follikelepithels des Ovariums, nachdem er dasselbe von anderen morphologischen Beimengungen durch Digerieren mit 1‰iger Salzsäure, dann durch Erwärmen auf dem Wasserbad und Pepsinverdünnung befreit hatte.

Er fand folgende Zusammensetzung:

C = 47,27
H = 6,71
N = 16,93
S = 3,67
O = 24,72
Asche = 0,70.

Die Substanz war in konzentrierten Alkalilaugen und in kochender Salzsäure löslich.

Nach *Sukatschoff* bestehen die Cocons der Blutegel (Nephelis und Hirudo) aus einem «Keratin». *Neri* behauptete, daß die harten Kiefern der Cephalopoden aus einer keratinartigen Substanz bestünden. *Schmiedeberg* fand in der Schale der Brachiopoden (Lingula anatina) neben Chitin eine albuminoide Substanz. *Griffith* untersuchte die Tegumente von Schmetterlingspuppen und stellte ein Produkt $C_{14}H_{20}H_2O_5$ dar, indem er die Puppen anhaltend mit Natronlauge kochte, den Rückstand mit schwacher Säure, Wasser, Alkohol und Äther auszog, in konzentrierter Salzsäure löste und durch viel Wasser fällte. Er nannte diese Substanz «Pupin» und gab an, dieselbe zerfalle glatt in Leucin und Kohlensäure. Weiteres ist über diesen Körper, der wohl ein noch größeres Molekül besitzt, nicht bekannt.

B. Die Albuminoide der Vertebraten.

1. Das Collagen und der Leim.

Das Collagen bildet die Hauptmenge der die Bindegewebezellen umgebenden Grundsubstanz in lockerem Bindegewebe, in Sehnen, Fascien, Bändern, ferner die organische Grundsubstanz der Knochen und einen Teil derselben in Knorpel *(Morochowetz, Mörner)*, in der Cornea *(Morochowetz, Mörner)* und in den Fischschuppen *(Weiske, Mörner)*. Um das Collagen rein darzustellen, löst man die organischen Bestandteile der Knochen durch Salzsäure auf und behandelt mit verdünnten Alkalien zur Entfernung organischer Ver-

unreinigungen. Aus Sehnen gewinnt man das Collagen nach Extraktion mit halbgesättigtem Kalkwasser oder nach tryptischer Verdauung (um das Mucin zu entfernen) und darauffolgendem Auswaschen mit Wasser. Collagen ist farblos, quillt in kaltem Wasser, besser in verdünnten Säuren oder sehr verdünnten Alkalien und löst sich beim Erhitzen in starken Alkalien, nicht in Sodalösung. Durch Magensaft wird Collagen in Lösung gebracht, durch Pankreassaft erst nach vorheriger Behandlung mit verdünnter Säure (Quellung) und mit Wasser von 70° (Schrumpfung). Letzteres gilt besonders für das fibrilläre Collagen des gewöhnlichen Bindegewebes. Durch Chromsäurebehandlung und -belichtung werden auch in solcher Weise vorbereitete Fibrillen für die Verdauungsfermente unangreifbar *(Kühne* und *Ewald)*. Für das Sehnencollagen ergaben sich Unterschiede im Grade der Verdaulichkeit zwischen verschiedenen Tierarten *(Ewald)*. — Inbetreff des Knorpels, dessen Grundsubstanz ältere Forscher für einen besonderen Körper gehalten hatten (Chondrigen, Chondrin oder Knorpelleim: *Joh. Müller*, *F. Verdeil*, *L. Valenciennes*) stellte *Morochowetz* fest, daß wir es hier mit einem Gemenge von Collagen und Mucin zu tun haben. Diese Angabe hat *Krukenberg* bestätigt und schließlich beschrieb *Mörner* eingehend die Zusammensetzung des Knorpels. Nach dem Letzteren enthält derselbe:

1. Das Chondromucoid,
2. Die Chondroitinschwefelsäure,
3. Das Collagen,
4. Ein Albumoid (in altem Knorpel).

Schmiedeberg hat gezeigt, daß der «Knorpelleim» eine Verbindung von Glutin mit chondroitinschwefelsaurem Alkali darstellt. Die Chondroitinschwefelsäure verhindert auch die Fällung des Glutins durch Gerbsäure, ein Umstand, der früher zur Unterscheidung des «Chondrins» vom Glutin geführt hat. Das Knorpelcollagen läßt sich, wie auch das Knochencollagen, nur schwer in Glutin umwandeln. In den Fischschuppen fand *Weiske* ein Collagen; nach *Mörner* bestehen

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

dieselben zu $^4/_5$ aus dieser Substanz. Die Verwandlung desselben in Glutin erfolgt schon durch Wasser von 40°, sowie durch $^1/_{10}$ %ige Salzsäure. Collagen findet sich nach *Morochowetz'* und *Mörners* Untersuchungen auch in der Hornhaut (es enthält nach *Mörners* Bestimmung 16,95 % N) und in der Sklera des Auges, in ersterer zu 80 %, in letzterer zu 87 %. — Das Collagen zeigt nach der Behandlung mit Sublimat, Eisenvitriol oder Gerbsäure starke Schrumpfung und unterliegt nicht mehr der Fäulnis; es geht durch Lösen in siedendem Wasser in Glutin (Leim, Gelatine) über, welches bei Zimmertemperatur zu einer Gallerte erstarrt. — Eine Analyse des Collagens lieferte *Hofmeister:*

C = 50,75
H = 6,49
N = 17,86.

Läßt man Collagen wochenlang unter Alkohol oder Äther stehen, so verliert es die Fähigkeit, in Glutin überzugehen. *(Tebb.)* Verzögert wird (nach *Mörner*) die Gelatinierung durch die Anwesenheit von 10 % Chlor, — besser Jodalkali. — Auf diese Verzögerung bezw. sogar Verhinderung der Gallertebildung sind die Angaben von *Dastre* und *Floresco* bezüglich einer «Digestion saline» des Glutins durch Salzlösungen zurückzuführen. —

Das Glutin, welches durch Eingießen einer konzentrierten Leimlösung in Alkohol zur Abscheidung gebracht wird, stellt in trockenem Zustande ein farbloses, amorphes Pulver dar; die durchsichtigen Tafeln der gewöhnlichen Gelatine sind noch wasserhaltig. Das Erstarren einer 0,5—1 %igen Leimlösung erfolgt bei gewöhnlicher Temperatur; bei 30° tritt wieder Verflüssigung ein. Bei der Art der Darstellung des Glutins durch Kochen des Collagens ist es nicht ausgeschlossen, daß wir in dem Leim vielleicht ein Gemisch hydrolytischer Produkte zu erblicken haben.

Die Ansicht, daß die Glutinbildung auf einer hydrolytischen Spaltung des Collagens beruhe, ist von *Hofmeister* ausgesprochen worden. Er fand, daß das Gewicht des Leims um 3 % größer ist als das des entsprechenden Collagens.

Ferner gelang es ihm, durch Erhitzen auf 130° das Glutin in eine Art von Anhydrid zu verwandeln, ein Vorgang, welchen *Hofmeister* direkt als Zurückbildung des Collagens auffaßt; sichergestellt ist jedoch diese Annahme noch nicht. — Von den physikalischen Konstanten des Glutins wurde die Verbrennungswärme und die spezifische Drehung bestimmt.

Für erstere geben *Berthelot* und *Stohmann* an, daß sie 500—700 Cal. kleiner sei als die der anderen Eiweißkörper. Die spezifische Drehung des Glutins (links) untersuchte *Nasse* (vergl. auch *Framm*, *de Bary*); er fand:

$$\alpha D = -167{,}5°.$$

Diese spezifische Drehung zeigte sich sowohl von der Konzentration der Lösung, als auch von Zusätzen (z. B. Alkohol, Neutralsalze etc.) sehr abhängig. — Das Glutin bildet mit Säuren und Basen Salze, jedoch tritt sein Säurecharakter stärker hervor, da es in reinem Zustande sauer reagiert und Karbonate zerlegt (*Hofmeister*, *Tatarinoff*, *Nasse*). —

Um das Glutin vollkommen zu reinigen, haben frühere Untersucher sich nur des Wassers, bisweilen einer Kochsalzlösung bedient. (Angaben von *Lehmann*, *Hofmeister*, *Chittenden* und *Solley*, *Dastre* und *Floresco*, *Hammarsten*, *Neumeister*.) *Mörner* schlug vor, den Leim (Gelatine) tagelang mit ätherhaltigem Wasser (um Fäulnis zu verhindern) zu waschen, einige Wochen mit oft gewechselter, bis 1 %iger Kalilauge zu digerieren, dann mit Wasser, sehr verdünnter Essigsäure und wieder mit Wasser nachzuwaschen. Nach Auflösen und Fällen mit Alkohol erhielt so *Mörner* einwandsfrei reine Präparate von sehr geringem Aschengehalte. — Reaktionell ist das Glutin charakterisiert durch den positiven, aber schwachen Ausfall der Millonschen Probe (*Nencki*, *Selitrenny*, *van Name*, *Mörner*) und der Xanthoproteinreaktion (Klug, *Hofmeister*) und den negativen Ausfall der Schwefelbleiprobe (*Mörner*), woraus hervorzugehen scheint, daß 1. die Menge aromatischer Oxysäuren, welche das Glutin enthält, sehr gering ist, und daß 2. abspaltbarer Schwefel sich nicht im Molekül vorfindet; allerdings ist es, was den zweiten Punkt betrifft, nicht unmöglich, daß der an und für sich vorhandene,

abspaltbare Schwefel bei dem Material, welches *Mörner* in Händen hatte (es war käufliche Gelatine) schon durch die Darstellungsweise verloren gegangen ist. Merkwürdig ist jedenfalls *Mörners* am gereinigten Glutin gefundene Schwefelzahl: 0,2 %, während bei früheren Analysen schon 0,5 % sich ergeben haben (*Schliefer, Verdeil, Faust, Mörner* für Schuppenglutin). — Von den übrigen Eiweißreaktionen fällt beim Glutin die Biuretreaktion positiv aus[1], ebenso wie die Probe nach Molisch (*Klug*); dagegen bleibt die Probe nach Adamkiewicz negativ.

Leimlösungen werden durch Salpetersäure, Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure (auch bei einfachem Ansäuren) nicht gefällt. Ebensowenig fällen die meisten Schwermetallsalze. Fällungen, welche in der Hitze sich lösen und beim Erkalten wieder auftreten, werden bewirkt durch Platinchlorid, Goldchlorid und Zinnchlorür. Quecksilbernitrat und basisches (nicht neutrales) Bleiacetat rufen Niederschläge hervor, ebenso die Alkaloidreagentien; Phosphorwolframsäure erzeugt einen auch in der Hitze unlöslichen Niederschlag. Besonders merkwürdig sind aber noch folgende Fällungen: Sublimat fällt nur bei Anwesenheit von Salzsäure oder Neutralsalzen; auch zur Gerbsäurefällung ist (wie bei Eiweißlösungen) ein Salzzusatz notwendig *(Weiske, Mörner)*, ebenso zur Alkoholfällung. Sehr eingehend studierte *Mörner* die Fällbarkeit der Glutinlösungen mit Ferrocyankali und Essigsäure; er konnte beobachten, daß es möglich ist, in stark verdünnter Lösung und unter Abkühlen bis -30° eine Fällung hervorzurufen: Salze, organische Säuren oder Basen verhindern dieselbe. Der Niederschlag ist im Überschuß des Fällungsmittels und des Glutins löslich. — Das Glutin kann aus seinen Lösungen auch durch Ammonsulfat *(Klug)* und durch Natriumsulfat *(Mörner)* ausgesalzen werden. —

Bevor wir uns zur Betrachtung der Spaltprodukte des Glutins wenden, seien die Analysen der verschiedenen Glutine angeführt; hierbei sind die Unterschiede — nament-

[1] Vergl. auch pag. 39.

lich in den Stickstoffwerten — der Glutine verschiedener Herkunft bemerkenswert. —

Autor:	Material:	C	H	N	S
Chittenden	Käufliche Gelatine	49,38	6,8	17,97	0,7
Faust	» »	49,09	6,76	17,68	0,48
Paal	Gereinigte Gelatine	50,14	6,69	18,12	0,07
Scherer	Sehnenglutin	50,9	7,18	18,32	—
Van Name	»	50,11	6,56	17,81	0,256
Scherer	Fischleim (Hausenblase)	50,0	6,9	18,79	—
Goudoewer	» »	49,9	6,73	17,95	—
Faust	» »	48,69	6,76	17,68	—
Mulder	Leim aus Hirschhorn	50,05	6,55	18,37	—
Frémy	Leim	50,0	6,50	17,50	—

Schwefelbestimmungen.

Autor:	Material:	S.
Schliefer:	Käufl. Gelatine	0,56
Mörner:	» (rein)	0,2—0,25
Mörner:	Hornhautglutin	0,3
Mörner:	Fischschuppenglutin	0,52

Stickstoffbestimmungen.

Autor:	Material:	N.
Mörner:	Hornhaut-Glutin	16,95
Mörner:	Rindsknorpel-Glutin	16,14
Lönnberg:	Rajabatis-Knorpel-Glutin	16,04
Mörner:	Fischschuppenglutin	17,51.

Über höhere, d. h. albumose- und peptonartige Spaltprodukte des Leims liegt eine ganze Reihe von Untersuchungen vor.

Während *Meißner* und *Kirchner* angegeben hatten, daß Gelatine durch Verdauungsfermente nicht verändert werde, haben später viele Forscher eine solche Veränderung nachweisen können, und es gelang, zu zeigen, daß sowohl Magensaft (Pepsinsalzsäure), als auch Bauchspeichel (Trypsinalkali)

den Leim sehr gut verdauen. *(Gmelin, Tiedemann und Gmelin, Beaumont, Blondlot, Uffelmann, De Bary, Nencki, Frerichs, Im Thurn, Metzler, Kühne, Schweder, Fede, Etzinger, Tatarinoff.)* Die meisten Autoren beschränkten sich auf die Angabe, daß Glutin unter der Einwirkung der Verdauungsfermente sein Gelatinierungsvermögen einbüßt und auch verschiedene Fällungsreaktionen nicht mehr zeigt (Ferrocyankali + Essigsäure z. B.).

Bei der Untersuchung der peptischen bezw. tryptischen Verdauung konnte zuerst *Tatarinoff* die Bildung von «Albumosen» und von diffusiblem Leimpepton nachweisen. Dann fanden *Chittenden* und *Solley* eine Proto- und eine Deuterogelatinose, sowie einen unlöslichen Rückstand. *Klug* fällte das Glutosegemisch total mit Ammonsulfat, brachte den Niederschlag wieder in Lösung und fällte durch Kochsalzsättigung eine Protoglutose, aus deren Filtrat sodann durch konzentrierte Kochsalzlösung + Essigsäure (30 %) eine Deuteroglutose. Er analysierte das Glutosegemisch und fand dafür folgende Werte: (Asche = 2,14 %)

C = 40,6
H = 7,02
N = 15,86
O + S = 37,06.

Ein «Glutinopepton» gewann *Klug* durch Fällung mit absol. Alkohol als gelbe bröckelige, ungemein leicht lösliche Masse. Nach seinem Verhalten gegenüber Ammonsulfat ist dieser Körper eine Albumose. Seine Analyse ergab:

Asche = 3,17
C = 42,95
H = 7,18
N = 15,89
O + S = 33,98.

Der Körper zeigte positive Reaktion nach *Molisch*. Etwa 5,69 % des zur Verdauung verwendeten Leims blieben ungelöst: Klug nannte diesen Rückstand «Apoglutin» («Anti-

glutid» — *Chittenden*) und erhielt ihn sowohl bei peptischer, als auch bei tryptischer Verdauung. Das Apoglutin war in Wasser unlöslich, nur durch konzentrierte Schwefelsäure in Lösung zu bringen, gab positive Biuret- und Millonsche Reaktion und beim Kochen mit Salpetersäure Gelbfärbung. Die Reaktion nach Molisch war negativ. Die Analysen des Trypsin (I) — Apoglutins und des Pepsin (II) — Apoglutins weichen etwas von einander ab.

I.	II.
C = 49,11	C = 48,39
H = 8,48	H = 7,50
N = 11,65	N = 14,02
O + S = 30,76	O + S = 30,09.

Von allgemein physiologischem Interesse sind *Klugs* Versuche über die Bedeutung des Leims für die Ernährung des Tierkörpers. Die zahlreichen Versuche von *Voit* und *Bischoff* haben bereits gezeigt, daß Leim die Eiweißstoffe nicht zu ersetzen, wohl aber dieselben durch seine Zersetzung zu sparen vermag. *Klugs* Beobachtungen bestätigten dieses Resultat in vollstem Umfange. Außerdem hat dieser Forscher sich die Frage vorgelegt, ob Leim bei der Verdauung in das Blut gelange oder nicht. Er hat die Frage in negativem Sinne entschieden. Nach Injektion von Leimlösung in die Vena jugularis (Hund) tritt im Blut und im Harn Leim auf; führt man jedoch den Leim direkt in den Darm ein, so findet sich weder im Blut, noch im Harn eine Spur davon wieder. Daß bei der Verdauung des Leims doch eine wenigstens teilweise Verwendung der gebildeten Produkte stattfinden müsse, geht aus einem Versuch von *J. Pohl* hervor. Nach *Hofmeister* binden die Leukocyten Peptone: Pohl fand nun nach Ernährung mit Leim eine sehr starke Vermehrung der Leukocyten, woraus doch eine Aufnahme von Leimpeptonen sich ergeben würde. —

Ein Trypsinglutinpepton untersuchte in neuester Zeit *R. Krüger*; dasselbe gab vollkommene Peptonreaktionen, die

Millonsche Probe und die Reaktion nach Molisch fielen negativ aus. Das Produkt enthielt noch 0,17 % Schwefel.

Die Formel $C_{19}H_{30}H_6O_9$ ergab sich aus folgenden Analysenwerten:

C = 46,8
H = 6,23
N = 17,3.

Bestimmungen des Molekulargewichtes lieferten die Zahlen 866, 946, 903, während die verdoppelte Formel 973 verlangt. In 2—3,5 %iger Lösung bestimmte *Krüger* $[\alpha]D\ 20^0$ zu — 100,8. Über ein Pepsinglutinpepton (schon beschrieben Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 363) berichtete *W. Scheermesser*. Aus 12 Tage bis 1 Monat lang peptisch verdauter Gelatine gewann er nach der Methode von *M. Siegfried* (Eisenfällung) ein Produkt, dessen Zusammensetzung der Formel $C_{23}H_{39}N_7O_{10}$ entsprach. Dasselbe gab die Biuretreaktion, war durch Bleiessig, Silbernitrat, Sublimat und Ferrocyanwasserstoffsäure nicht, durch Phosphorwolframsäure nur aus konzentrierter Lösung fällbar und lieferte bei totaler Hydrolyse Arginin, Lysin, Glutaminsäure und Glycocoll. Von dem Gesamtstickstoff sind 69,85 % Mono- und 25,13 % Diaminostickstoff. Der letztere verteilt sich auf Lysin und Arginin mit 8,9 bezw. 14,0 %. 11,15 % des Monoaminostickstoffs entstammen der Glutaminsäure. — Die spezifische Drehung des Peptons wurde etwas schwankend gefunden:

$[a]D = -76{,}11^0$; höchster Wert $= -84{,}01^0$.

Die Zersetzung des Leims durch überhitztes Wasser studierte zuerst *Goudoever* an dem Glutin der Hausenblase (Fischleim). Er erhielt ein Produkt, welches folgende Zusammensetzung zeigte:

C = 48,86
H = 6,57
N = 17,36.

Genauer untersuchte die hierbei auftretenden — natürlich den Atmidkörpern analogen — Substanzen *Hofmeister*. Nach-

dem er Glutin (Gelatine) 30 Stunden lang in bedecktem Kessel gekocht hatte, erhielt er eine gelbliche, syrupöse, sauer reagierende Lösung, aus der sich auf Grund ihrer Fällbarkeit, bezw. Nichtfällbarkeit durch Platinchlorid zwei Körper isolieren ließen: das Semiglutin (I), durch Platinchlorid fällbar, in 70—80 %igem Alkohol unlöslich, und das Hemicollin (II) durch Platinchlorid nicht fällbar, in Alkohol leichter löslich. Von ersterem wurde das Platinsalz, von letzterem das Kupfersalz analysiert:

	I.	II.
	$C_{55}H_{81}N_{17}O_{22}Pt$.	$C_{47}H_{88}N_{14}O_{19}Cu$.
(Normales Salz)	C = 43,13	C = 47,16
	H = 5,43	H = 5,81
	N = 15,40	N = 16,33
	O = 23,03	O = 25,51
	Pt = 13,01	Cu = 5,19.

Dem Semiglutin fehlt die Reaktion nach Molisch. — Das Gewicht der Summe der Zersetzungsprodukte fand Hofmeister 2,22 % höher als das des Ausgangsmaterials, was auf eine hydrolytische Spaltung hindeutet.

Nasse gewann ein Glutosengemisch durch viertägiges Erhitzen des Glutins unter Druck. Für dessen Lösung bestimmte er

$$\alpha D = -130,18 \text{ bis } -122,46.$$

Schon *Kühne*, *Gmelin* und *Carey-Lea* haben darauf aufmerksam gemacht, daß die Veränderung des Leims rascher durch Säuren oder Alkalien eintritt, als durch Wasser. Die bei der Einwirkung verdünnter Salzsäure aus Gelatine entstehenden «Peptonchlorhydrate» hat *C. Paal* untersucht. Er fand, daß hierbei Peptonsalze von mehr oder minder hohem Gehalt an gebundener Salzsäure entstehen. Durch Molekulargewichtsbestimmungen konnte er zeigen, daß mit steigendem Säuregehalt das Molekulargewicht abnimmt. Die säureärmeren Produkte waren durch Ammonsulfat aussalzbar, die säurereicheren dagegen nicht. *Paal* gibt folgende analytische Daten für seine verschiedenen Glutinpeptonchlorhydrate, bezw. freien Glutinpeptone an:

I. (Salz)	II. (Pepton)	II. (Salz)	II. (Pepton).
	(Mittelwerte)		
C = 45,9	C = 51,31	C = 43,28	C = 49,80
H = 6,9	H = 7,5 %	H = 6,57	H = 7,10
HCl = 10,45		HCl = 13,14.	

Das für das freie Pepton II ermittelte Molekulargewicht war 262, bezw. 292. — Durch Fällung mit Phosphorwolframsäure konnte *Paal* die «Peptone» in verschiedene Anteile zerlegen. — Ferner erbrachten *Paal* und *Schilling* den Nachweis, daß die von *W. Fahrion* durch Einwirkung von Salzsäure auf das mit alkoholischer Natronlauge zersetzte Glutin gewonnene sog. Proteinsäure nichts anderes als die alkohollöslichen Glutinpeptonchlorhydrate darstelle. *Paal* führte den niedrigen Kohlenstoffgehalt der *Klug*schen Glutosen darauf zurück, daß diese noch gebundene Salzsäure enthielten, welche nach seiner Erfahrung nur durch Anwendung der Silbersulfatfällung völlig entfernt werden kann. Es ist anzunehmen, daß *Paals* Peptonsalze von höchstem Säuregehalt, welche leicht löslich und diffundierbar sind, aus einem Gemische von Pepton und tieferen Spaltprodukten bestehen. Hier sei erwähnt, daß bei der Peptonisierung ebenso, wie die Säureäquivalenz, auch die Basenäquivalenz des Glutins zunimmt *(Nasse)*.

Maly hat seine Oxydationsversuche an Eiweißkörpern mittels alkalischer Permanganatlösung auch auf den Leim ausgedehnt und gefunden, daß derselbe viel leichter in eine «Peroxyprotsäure» verwandelt wird, als die nativen Albumine.

Mittels der Oxydation durch Calciumpermanganat hat *G. Zickgraf* dargetan, daß die Biuretreaktion des Leims an der intakten Argiringruppe hafte; es ist ihm gelungen, zu zeigen, daß mit dem Verschwinden der Biuretreaktion eine Maximalausbeute an Guanidin (Spaltprodukt des Arginins) zusammentrifft. Bei dieser Oxydation entstand auch noch eine N-reiche organische Säure; sie löste sich in heißem Wasser, sublimierte bei 260° und entwickelte unter Einwirkung von Natronlauge Ammoniak.

Bei der Zersetzung des Glutins durch Verdauungsfermente entstehen kristallinische Produkte nur in ganz geringer Menge *(Reich)*; das Auftreten von Leucin und Glycocoll bei der Kombination von tryptischer Verdauung und Fäulnis, wie sie *Nencki* anwandte, kann auch von der Fäulnis allein herrühren.

Neuerdings hat nun *P. A. Levene* gefunden, daß bei tryptischer Verdauung des Leims reichlich Glycocoll abgespalten wird; ferner entsteht hierbei Leucin und wahrscheinlich Glutaminsäure und Penylalanin. In der Phosphorwolframfällung der tryptischen Zersetzungsflüssigkeit fand *Levene* eine hygroskopische Substanz, deren Cu-Salz zwar die Zusammensetzung, aber nicht das Aussehen des α-pyrrolidincarbonsauren Kupfers hatte: $(C_5H_8NO_2)_2Cu$.

Unter den kristallisierten Spaltprodukten des Leims ragt vor allem das Glycocoll durch seine große Menge hervor. *Braconnot* entdeckte diese Substanz 1820 im Leim und seither wurde sie von allen Untersuchern bei der Säurespaltung des Glutins angetroffen *(Horbaczewski, Gaethgens, Drechsel und E. Fischer, C. S. Fischer, Gonnermann)*; bei Fäulnis wurde es erhalten von *Nencki* und *Selitrenny*. Aus 100 g Leim erhielt *Gonnermann* 8,44 g Glycocoll. Weiterhin fanden sich im Glutin vor: Leucin, dessen Homologe Aminopropionsäure, Aminobuttersäure. Aminovaleriansäure *(Schützenberger, Maly)*, Glutaminsäure, *Horbaczewski* fand 15—18% Asparaginsäure und Phenylalanin, letzteres erschlossen durch das Auftreten von Benzoësäure bei der Oxydation *(Maly)*, von Phenylpropionsäure, Phenylaethylamin und Phenylessigsäure bei der Fäulnis *(Selitrenny)*. Dagegen sind bis jetzt weder Tyrosin, noch Indol und Skatol im Leim nachgewiesen worden. Eine ganze Reihe von Produkten, darunter Homopyrrol, Dimethylpyrrol und vielleicht Chinolin, entsteht bei der trockenen Destillation des Leims *(Weidel* und *Ciamician)*. *E. Fischer, Levene* und *Aders* haben folgende Mengen von Mono-Aminosäuren durch Hydrolyse mit Salzsäure erhalten:

16,5 Glycocoll
0,8 d-Alanin
2,1 l-Leucin
0,56 Asparaginsäure
0,88 d-Glutaminsäure
5,2 l-Pyrrolidincarbonsäure
0,4 d-Phenylalanin.

Außerdem findet sich im Leim Serin und eine Aminosäure von der Formel $C_5H_9NO_3$, welche höchst wahrscheinlich eine Oxypyrrolidin-α-carbonsäure ist *(Fischer)*. Von schwefelhaltigen Produkten ist bis jetzt nur das Methylmercaptan durch *Nencki* und *Selitrenny* bei der Fäulnis (Bac. liquefaciens magnus und Rauschbrand) beobachtet worden.

Auch Oxalsäure, Kohlensäure und Ammoniak (0,3 %) treten bei der Zersetzung des Glutins durch Säure (Schwefelsäure) auf. — *Kossel* und *Kutscher* isolierten aus dem Leim Arginin (9,3 %), Lysin (5—6 %), und wenig Histidin (vgl. auch *Drechsel*, *E. Fischer*, *Hedin*, *Hart*). *Hausmann*, welcher die Stickstoffverteilung im Glutin untersuchte, fand 35,83 % des Gesamtstickstoffs als Diaminostickstoff, nur 1,61 % Ammoniak- und 62,56 % Monaminostickstoff.

Aus dem hohen Diaminostickstoffgehalt des Glutins, dem Vorherrschen des Glycocolls und Leucins, aus der Abwesenheit des Tyrosins sowie der indolliefernden Gruppe hat man geschlossen, daß der Leim im wesentlichen aus der Antigruppe des Eiweißes bestehe: und wirklich besteht eine große Ähnlichkeit zwischen dem Leim und der derselben Eiweißgruppe angehörenden Heterofibrinose *(Pick)*. Diese Annahme wird noch gestützt durch die Auffindung eines resistenten «Apoglutins» bezw. Antiglutids, welches dem «Antialbumid» entspricht. Eine Entscheidung dürfte sich über diesen Punkt erst treffen lassen, wenn genaue Untersuchungen der Glutinosen nach den modernen Methoden der Hofmeisterschen Schule vorliegen; es müßten dann im vorliegenden Falle die Protogelatinose und ihre Abkömmlinge zurücktreten gegenüber der Heterogelatinose, und es wäre dies vergleichsweise interessant, weil beim Caseïn, welches wahr-

scheinlich der «Hemigruppe» angehört, umgekehrt die Heterocaseose fast völlig fehlt und die Protocaseose hauptsächlich auftritt. Auch wäre die Auffindung einer «Thioglutinose» von Bedeutung für die Klärung der Fragen, welche inbetreff des Schwefels im Glutin noch offen stehen.

Zu erwähnen ist hier noch eine Substanz, die *Faust* im Blutserum auffand, das sog. Glutolin, von welchem der Entdecker annimmt, daß es dem Glutin näherstehe als dem nativen Eiweiß und daß es die Muttersubstanz des Glutins im Blut darstelle. *Faust* wandte zur Darstellung des Glutolins eine 5 ‰ige Kalilauge an: es ist nicht unmöglich, daß der Körper das Resultat einer Veränderung der Serumeiweißkörper ist.

Glutolin fällt mit Säuren klebrig aus, verhält sich sonst wie die Globuline, ist aber in Wasser und Neutralsalzlösungen unlöslich und gibt eine schwache Millonsche Reaktion. Seine Zusammensetzung wurde gefunden zu:

C = 51,2
H = 7,24
N = 17,47
S = 0,46.

Nachträglich seien hier die Arbeiten von *Wl. S. Sladikoff* angeführt, welcher eine Reihe verschiedener Leimstoffe (Glutine und Gluteïne) dargestellt und auf ihr Verhalten gegenüber Salzlösungen untersucht hat; als wichtigstes Resultat fand er hierbei, daß beim Behandeln trockner Gelatine mit einer 50 %igen Kaliumnitritlösung ein Teil der Gelatine in Lösung geht, während ein anderer Teil auch bei Erneuerung des Lösungsmittels unlöslich bleibt: hier hätte man also ein Mittel zur Zerlegung der Gelatine, deren Einheitlichkeit ja auf Grund ihrer Darstellung (gespannte Wasserdämpfe) bezweifelt werden darf.

2. Das Reticulin.

Anschließend an diese Besprechung des Glutins sei eine Substanz beschrieben, welche *Siegfried* als die Grundsubstanz

des reticulären (adenoiden) Bindegewebes bezeichnet: das «Reticulin». Dasselbe findet sich nach Angabe seines Entdeckers in Lymphdrüsen, Darmmucosa, in der Leber, Niere und Milz. *Siegfried* setzte zur Darstellung des Reticulins die Mucosa des Schweinedünndarms zuerst der Einwirkung von Trypsin und Soda aus, wusch dann den Rückstand mit kochendem Wasser aus und extrahierte ihn mehrere Tage mit Alkohol und Äther. Nach wiederholter Behandlung in angeführter Weise bleibt das Reticulin in quellbaren, grauen Strähnen zurück; doch enthält es in dieser Form noch leimgebende Substanz, da sich ihm solche durch $^1/_2$stündiges Auskochen mit Wasser entziehen läßt. Das schließlich übrigbleibende, in Wasser, verdünnten Säuren und Alkalien, sowie in den Verdauungsflüssigkeiten unlösliche Pulver gibt eine positive Biuret- und Xanthoproteinreaktion, eine positive Adamkiewiczsche und Schwefelbleiprobe, dagegen bleibt die Millonsche Reaktion aus. In überhitztem Wasser, wie auch in 10%iger Natronlauge löst sich das Reticulin unter Bildung von «Albumosen» und Peptonen, bezw. eines Alkalialbuminates. Bei tiefgreifender Spaltung fand *Siegfried* Lysin und Aminovaleriansäure, dagegen kein Tyrosin, kein Kohlehydrat und fast keine Glutaminsäure; außerdem beobachtete er das Auftreten von Ammoniak und Schwefelwasserstoff. Die Elementaranalyse des Reticulins ergab die Werte:

C	= 52,88
H	= 6,97
N	= 15,63
S	= 1,88
Phosphor	= 0,34
Asche	= 2,27.

Der Phosphor gehört nicht etwa der Asche an, sondern ist organisch gebunden. — Gegenüber *Siegfrieds* Befunden machte nun *Tebb* den Einwand, daß das Reticulin wahrscheinlich im wesentlichen nur ein durch die Einwirkung von Alkohol und Äther verändertes, schwerer in Glutin überführbares Collagen sei; *Tebb* fand in der Darmschleimhaut kein Reticulin vor.

8. Das Elastin.

Die Grundsubstanz des elastischen Gewebes, besonders des zu einem derben Strang entwickelten Ligamentum nuchae, bildet ein durch seine große Widerstandsfähigkeit gegenüber chemischen Agentien ausgezeichneter Stoff, das Elastin. Dasselbe findet sich auch in den Wänden der Gefäße (besonders der Aorta) und in Form von einzelnen Fibrillen im gewöhnlichen Bindegewebe eingelagert. Zu seiner Darstellung wurde von seinen Untersuchern das außerordentlich stark ausgebildete lig. nuchae des Ochsen benützt. *Horbaczewski* unterwarf zur Reingewinnung des Elastins das Nackenband folgenden Prozeduren: Zuerst wurde dasselbe, in kleine Stücke zerschnitten, 3—4 Tage mit Wasser ausgekocht, dann mit 1%iger Kalilauge digeriert und abermals mit Wasser ausgekocht, dann mit 10%iger Essigsäure behandelt, mit Wasser ausgekocht, mit 5%iger Salzsäure 24 Stunden lang mazeriert, mit Wasser gewaschen und schließlich mit Alkohol und Äther erschöpfend extrahiert. Diese letzte Extraktion dauert, wenn sie vollkommen sein soll, zwei Wochen lang, selbst wenn man das Elastin vorher pulverisiert hat.

Ein so gewonnenes Elastin war schwefelfrei; *Horbaczewski* fand dafür bei der Analyse folgende Zahlen:

C = 54,32
H = 6,99
N = 16,75
Asche = 0,51.

W. Müller bestimmte in einem Elastin den Schwefel zu 0,08% und war geneigt, diese geringe Menge einer Verunreinigung durch andere Eiweißstoffe zuzuschreiben. *Richards* und *Gies* haben bei der Reinigung statt der Kalilauge halbgesättigtes Kalkwasser angewandt und für ihr Elastin folgende Zusammensetzung gefunden:

C = 54,14
H = 7,33
N = 16,87
S = 0,14
O = 21,52.

Chittenden und *Hart* haben Elastin mit (I) und ohne (II) Alkalibehandlung dargestellt und gefunden, daß letzteres Präparat schwefelhaltig, ersteres dagegen schwefelfrei war.

I.	II.
C = 54,24	C = 54,08
H = 7,27	H = 7,20
N = 16,70	N = 16,85
O = 24,79	S = 0,3
	O = 21,57.

Zoja fand im Elastin 0,276% Schwefel.

Morochowetz bestimmte den Schwefelgehalt einer Elastose (?) sogar zu 0,617%. — *Schwarz*, welcher das Aortaelastin untersuchte, stellte fest, daß aller Schwefel durch Alkalilauge abspaltbar sei und erhielt für ein ohne Anwendung von Kalilauge oder Kalkwasser dargestelltes Elastin die Werte:

C = 53,95
H = 7,03
N = 16,07
S = 0,38.

Hedins und *Berghs* Zahlen für das Elastin gleicher Provenienz sind:

Material nach *Horbaczewski* dargestellt:	Material nach *Schwarz* dargestellt:
C = 53,95	
H = 7,58	
N = 15,44	N = 14,67
S = 0,55	S = 0,66.

Zum Vergleich mögen hier noch die Resultate zweier älterer Analysen wiedergegeben werden:

Tilanus:	*Mulder:*
C = 54,90—55,65	C = 55,09—55,72
H = 7,25— 7,41	H = 7,11— 7,67
N = 17,52—17,74	N = 15,71—16,52
S = 0,36.	

Das reine, zu einem feinen Pulver zerreibliche Elastin besitzt eine gelbliche Farbe; in der Kälte löst es sich in 5%iger Salzsäure nicht, Kochen mit Wasser greift es nicht an; bei langem Kochen löst es sich in 2‰ Salzsäure, schneller in heißer 1%iger Kalilauge (*Cohnheim*, Chemie der Eiweißkörper, gibt an, daß Elastin sich in letzterer kaum löse!), ebenso in kalter konzentrierter Kalilauge. Nach *Engel* gibt eine solche Lösung eine positive Millonsche Biuret-, Xanthoprotein- und Furfurolreaktion; das vorher durch Kalilauge gereinigte Elastin gibt natürlich keine Schwefelbleireaktion. Die alkalische Lösung ist durch Kochsalz und Essigsäure, sowie durch Tannin fällbar, nicht aber durch Sublimat oder Kupfersulfat.

Elastin wird durch Pepsin und Trypsin verdaut. Hierüber finden sich in der älteren Literatur nur spärliche Angaben: *Im Thurn* erklärt elastisches Gewebe für wenig verdaulich, *Etzinger* berichtet, daß Elastin in kleinen Stückchen durch Pepsin und 3‰ Salzsäure in 10 Tagen verdaut werde. *Ewald* hat gezeigt, daß die elastischen Fasern in Pepsinsalzsäure bezw. Trypsinalkali langsam gelöst werden, schneller nach vorausgegangenem Kochen oder Behandeln mit Säure oder Alkohol. Läßt man Osmiumsäure auf die Fibrillen einwirken, so werden sie für Pepsin unverdaulich, für Trypsin leichter verdaulich; das Umgekehrte tritt ein nach Behandlung mit Chromsäure und Belichtung.

Eingehende Versuche über die Verdauungsprodukte des Elastins hat zuerst *Horbaczewski* angestellt.

Er ließ auf 100 g pulverisiertes Elastin 1½ l einer 2‰ Salzsäure und 1,5 g Pepsin (*Brücke*) einwirken. Bereits nach einigen Tagen war klare Lösung eingetreten; dieselbe wurde salzsäurefrei dialysiert, zur Trockne verdampft und der Verdampfungsrückstand in toto analysiert. Die Analyse ergab:

C = 54,08
H = 7,00
N = 16,39
Asche = 0,13.

Aus dem wiedergelösten Produkt ließ sich durch Kochsalz und Essigsäure ein sogenanntes «Hemielastin» zur Abscheidung bringen. Dasselbe stellte ein schwach gelbliches Pulver dar, welches sich in ganz verdünnten Säuren und Alkalien löste, und die merkwürdige (später auch von *Chittenden* beobachtete) Eigenschaft besaß, in kaltem Wasser leichter löslich zu sein, als in heißem. Beim Kochen seiner klaren Lösung kam es sogar zu flockiger Abscheidung. Die Polarisation wurde geprüft und

$(\alpha)D = -02{,}7^0$ in 2,589%iger Lösung bestimmt.

Das Hemielastin erwies sich als durch Alkohol fällbar; konzentrierte Mineralsäuren fällten es ebenfalls, bewirkten jedoch im Überschuß wieder Lösung. Starke Niederschläge erzeugten Phosphorwolframsäure, Gerbsäure, Pikrinsäure, Ferrocyanwasserstoffsäure, ebenso Phenol und Essigsäure. Auch Kaliumwismuthjodid, sowie Kochsalz oder Magnesiumsulfat und Essigsäure fällten. Die Biuretreaktion und die Xanthoproteinreaktion fielen negativ aus. Trocknete man Hemielastin bei 100—120°, so wurde es wasserunlöslich und *Horbaczewski* ist der Ansicht, daß hier eine Rückbildung in «strukturloses Elastin» vorliege; es wird sich aber wohl nur um eine Art von Dysalbumosebildung gehandelt haben.

Horbaczewski gelang auch die Darstellung der Hemielastose durch Erwärmen des Elastins mit verdünnter Salzsäure bei Wasserbadtemperatur.

Das Hemielastin hatte folgende Zusammensetzung:

C	= 54,22
H	= 7,12
N	= 16,84
Asche	= 0,48.

Ein «Elastinpepton» stellte *Horbaczewski* dar, indem er die dialysierte Verdauungsflüssigkeit mit Bleikarbonat kochte und durch mehrfaches Wiederholen dieser Aufkochung alles Hemielastin entfernte; nach dem Entbleien mit Schwefelwasserstoff wurde das Filtrat eingedampft und gab einen in

kaltem und heißem Wasser, sowie in verdünntem Alkohol gleich löslichen Trockenrückstand. Die Lösung desselben war diffusibel; ihre polarimetrische Untersuchung ergab

$$(\alpha)D = -87{,}84^0,$$

sie war nur durch Alkaloidreagentien fällbar und gab die Farbenreaktionen, wie die Hemielastose. Die Analyse ergab:

C = 53,57
H = 8,075
N = 16,20.

Richards und *Gies* geben an, daß bei sehr lange fortgesetzter peptischer Verdauung auch echte Peptone entstehen.

Chittenden und *Hart* haben Elastin durch sehr schwach angesäuertes Wasser bei 100° zersetzt und die hierbei gewonnenen Produkte mit denen der peptischen und tryptischen Verdauung verglichen. Erwähnt sei noch eine Elastose von *Morochowetz*, deren Zusammensetzung gefunden wurde zu:

C = 55,9
H = 7,29
N = 16,68
S = 0,617.

Chittenden und *Hart* neutralisierten die Zersetzungsflüssigkeit mit Soda und dampften sie auf dem Wasserbade ein; hierbei bildete sich ein in kaltem Wasser leicht, in heißem dagegen schwerlöslicher gummiartiger Niederschlag. Die Lösung, welche sich wie eine normale Albumoselösung verhielt, enthielt kein Pepton; aus ihr wurden durch Sättigung mit Ammonsulfat die Elastosen ausgefällt und nach erneuter Lösung durch Kochsalz die Protoelastose abgeschieden. Die Elementaranalyse derselben ergab die Zahlen:

C = 54,39
H = 7,17
N = 16,66
O = 21,79.

Aus dem Filtrat der Protoelastose gelang durch Zusatz von konzentrierter Kochsalzlösung + 30% Essigsäure die Abscheidung einer Deuteroelastose, deren Zusammensetzung war:

C = 53,26
H = 7,12
N = 16,70
O = 22,92.

In ihrem reaktionellen Verhalten glichen beide Produkte denen von *Horbaczewski*.

Auch die Produkte der peptischen und tryptischen Verdauung wurden von *Chittenden* und *Hart* isoliert und analysiert. Sie fanden für dieselben:

I. Peptische Verdauung.

A. Protoelastose:	B. Deuteroelastose:
C = 54,52	C = 53,79
H = 7,01	H = 6,99
N = 16,96	N = 17,26
O = 21,51	O = 21,96.

II. Tryptische Verdauung.

A. Protoelastose:	B. Deuteroelastose:
C = 53,05	C = 54,65
H = 7,02	H = 7,04
N = 16,88	N = 16,55
O = 23,05	O = 21,76.

Auffallend ist, daß in keinem Falle eine Heteroelastose gefunden wurde.

Angefügt sei noch, daß *M. Schultze* die Beobachtung gemacht hat, daß sich Elastin durch Erhitzen mit Wasser auf 100° unter Druck löst; *Horbaczewski* wiederholte diesen Versuch und fand «Elastinpepton» in der Lösung; zu dem gleichen Resultat kam *Schwarz*. Offenbar sind hier wieder Produkte entstanden, welche den *Neumeister*schen Atmidkörpern nahestehen.

Von einfachen Spaltungsprodukten wurden beim Elastin durch Zersetzung mit Salzsäure gefunden: Leucin (von *Erlenmeyer* und *Schöffer* bis 45 %, ferner von *Zollikofer*), sehr wenig Tyrosin (0,25 % von *Erlenmeyer* und *Horbaczewski*, 0,34 % von *Schwarz*), Glycocoll und Aminovaleriansäure, dagegen keine Asparaginsäure und Glutaminsäure *(Horbaczewski, Schwarz)*. Außerdem trat wenig Schwefelwasserstoff und sehr wenig Ammoniak auf. Ferner fand sich ein bei der Oxydation Benzoesäure liefernder Komplex — wahrscheinlich also Phenylalanin — vor. *Richards* und *Gies*, *Schwarz*, sowie *Kossel* und *Kutscher* fanden Arginin (0,3 %), Lysin und Histidin in geringen Mengen. Bei der Alkalischmelze (200 °) traten nach *Schwarz* Indol, Skatol, Benzol und Phenol auf.

Genaue Angaben über die bei der Hydrolyse des Elastins entstehenden Produkte machten jüngst *E. Abderhalden* und *A. Schittenhelm*. Unter Anwendung von *Fischers* Trennungsverfahren fanden sie:

25,75 %	Glycocoll,
21,38	Leucin,
6,58	Alanin,
3,89	Phenylalanin,
1,74	α-Pyrrolidincarbonsäure,
1,00	Aminovaleriansäure,
0,76	Glutaminsäure,

Diaminosäuren traten nur in Spuren auf.

Das Elastin gehört also zu jener Klasse von Eiweißkörpern, welche im wesentlichen von den Monoaminosäuren gebildet werden (vergl. auch das Seidenfibroïn).

Wälchli setzte Elastin der Fäulnis aus und wies dabei Ammoniak, Kohlensäure, Valeriansäure, Leucin und Glycocoll nach. *Thierfelder* und *Zoja* beobachteten die anaerobiotische Zersetzung des Elastins durch den Bazillus des Rauschbrands und fanden dabei Kohlensäure, Wasserstoff, Stickstoff, Methan, Ammoniak und Methylmercaptan, ferner

Buttersäure, Valeriansäure und Phenylpropiolsäure, dagegen weder Phenol, noch Indol und Skatol.

Wenn die bisher dargestellten Präparate des Elastins einheitlich wären, so müßte nach *Siegfried* dem Elastin ein Molekulargewicht von mindestens 70000 zukommen.

4. Die Albumoide, Keratinoide und Keratoelastine.

Als Umwandlungsprodukte der Eiweißkörper, ähnlich den echten Albuminoiden, aber doch in manchen Punkten noch dem nativen Eiweiß (besonders dem koagulierten) nahestehend, sind einige Substanzen anzusehen, deren bestimmte Zugehörigkeit zu einer der großen Albuminoidgruppen nicht nachgewiesen ist. Diese sogenannten «Albumoide» zeichnen sich durch große Festigkeit aus; sie gleichen in vielen Punkten den leimgebenden Stoffen, liefern aber keine echten Glutine. Sie seien hier als Übergang zu den resistentesten aller Albuminoide, den Keratinen, geschildert, und zwar betrachten wir zunächst die dem leimgebenden Gewebe verwandten, bezw. in Gemeinschaft mit ihm vorkommenden Albumoide, das Albumoid der Linse, die Membranine, das Sarkolemm, das Albumoid des Knorpels und das Ichthylepidin; sodann zwei teils dem Elastin, teils dem Keratin ähnliche Substanzen: das «Elastoidin» und die keratinoide Substanz des Hühnermagens.[1] Hieran schließen sich endlich noch die «Keratoelastine» der Eierschalen einiger monotremer Säugetiere, Reptilien und Fische an.

a) In der Linse fand *Mörner* ein Albuminoid und zwar in einer Menge von 17% der frischen Linse, 48% der gesamten Eiweißkörper; dasselbe scheint sich mit dem Alter der Schichten zu vermehren, da es in den inneren Schichten reichlicher vorkommt als in den äußeren (jüngeren). Vor *Mörner* hatte schon *Knies* darauf hingewiesen, daß die

[1] Diese «Ähnlichkeiten» stützen sich bis jetzt nur auf unsere Kenntnis über die Resistenz der erwähnten Stoffe gegenüber verschiedenen Agentien. Ob sie sich auch nach genauerer Untersuchung der größeren Teilgruppen und der einfachen Spaltprodukte dieser Substanzen werden behaupten lassen, steht dahin.

(kataraktöse) Linse kein Keratin enthält, sondern ein durch Pepsin verdauliches Eiweiß. Das Albumoid löste sich weder im Wasser, noch in Salzlösungen, schwer in Ammoniak oder Essigsäure, dagegen leicht in sehr verdünnter Salzsäure oder Kalilauge (Albuminatbildung), aus welchen Lösungen es durch Neutralisation wieder abgeschieden werden konnte. Bei Totalsättigung wurde es durch Kochsalz, bei Halbsättigung durch Ammonsulfat oder Magnesiumsulfat ausgesalzen. Ferrocyanwasserstoffsäure bewirkte Fällung. Die Millonsche, Liebermannsche und Adamkiewiczsche Probe, die Xanthoproteïn- und Schwefelbleiprobe fielen positiv aus; das Albumoid koagulierte zwischen 43 und 47°.

Die Analyse des Albumoids ergab die Zahlen:

C = 53,12
H = 6,8
N = 16,62
S = 0,79.

Zum Vergleich sei hier die ältere Analyse des sogenannten «Kristallins» von *Mulder* angeführt:

C = 54,5
H = 6,9
N = 16,5
O, S = 22,1 S = 1,2% *(Rüling)*.

b) Aus zwei Albumoiden besonderer Art bestehen die Grundsubstanzen der Linsenkapsel und der Descemetschen Haut *(Sasse, Chittenden, Mörner)*. *Mörner* bezeichnet die beiden Substanzen als «Membranine» und erblickt ihren Unterschied in der größeren Löslichkeit des Linsenkapselmembranins gegenüber der geringeren des Membranins der Descemetschen Haut. Über die Widerstandsfähigkeit der Linsenkapsel gegenüber chemischen Agentien haben früher *Mensonides* und *Strahl* widersprechende Angaben gemacht. Die Membranine zeigten sich in Wasser, verdünnten Säuren und Alkalien in der Kälte unlöslich; erst beim Kochen

(100—130°) lösten sie sich auf. Konzentrierte Säuren lösten bei gewöhnlicher Temperatur, eine Albuminatbildung konnte *Mörner* nicht beobachten. Der peptischen und tryptischen Verdauung erlagen sie ziemlich leicht, auch nach Behandlung mit Osmiumsäure. In den Lösungen wurden Niederschläge hervorgerufen durch Alkohol und die Alkaloidreagentien; Salpetersäure und die Schwermetallsalze fällten nicht. Sehr intensiv fiel die Millonsche Probe und die Xanthoproteïnreaktion, deutlich die Biuret- und die Schwefelbleiprobe, schwach die Furfurolreaktion aus. Durch Kochen mit Mineralsäuren ließ sich eine reduzierende Substanz abspalten. *Mörner* bestimmte bei dem Membranin der Linsenkapsel

N = 14,10
S = 0,83,

bei der Descemetschen Haut:

N = 14,77
S = 0,9.

c) Das Sarkolemm, der häutige Teil der Schwannschen Scheide und die Membranae propriae (Harnkanälchen, Magendrüsen, Pankreas) werden durch Trypsin verdaut, durch Osmiumsäurebehandlung jedoch unverdaulich gemacht *(Chittenden)*.

v. Holmgren gibt an, daß das Sarkolemm (der Eiweißkörper des Muskelstromas) sich in Wasser und Salzlösungen nicht auflöst, wohl aber in verdünnter Alkalilösung oder Ammoniak, woraus es durch Säuren wieder gefällt werden konnte. Seine Koagulationstemperatur liegt bei 60°. Die Elementaranalyse ergab:

C = 52,63—52,98
H = 7,16— 7,4
N = 15,84—16,66
S = 1,2 — 1,3.

Hierher gehörten auch die wenigen Angaben, die wir über die Chemie der Chorda dorsalis besitzen. *Stenberg* fand in derselben beim Neunauge einen in Säuren schwer,

in Alkalien leicht löslichen Eiweißkörper, der durch Pepsin und Trypsin verdaut werden konnte, *Kossel* stellte dasselbe bei der Chorda dorsalis des Störs fest und fand bei der Analyse des aus derselben isolierten Körpers die Werte:

C = 51,82
H = 7,74
N = 15,8.

Für die ältere Literatur über diesen Gegenstand sei auf *Schloßbergers* Lehrbuch der Tierchemie I verwiesen.

d) Im Balkennetz des Knorpels (Trachealknorpel) wies *Mörner* ein Albumoid nach, welches durch Tropaeolin gefärbt wird. Zu seiner Darstellung extrahiert man zunächst den Knorpel mit 2—5‰ Kalilauge, wäscht mit Wasser aus und zerkocht den Rückstand mit Wasser unter Druck (110—120°). Zusammen mit den Knorpelzellen hinterbleibt dabei das Albumoid als schwammige Masse. Dieser Befund trat jedoch nur bei älteren Knorpeln ein. In jüngeren Knorpeln, wie auch in dem von *Lönnberg* untersuchten Knorpel von Raja batis, fand sich kein Albumoid vor. Das Albumoid fand *Mörner* schwerlöslich in Säuren und Alkalien und löslich in Magensaft bei längerer Einwirkung; aus alkalischer Lösung konnte es durch Säuren wieder abgeschieden werden. Die Millonsche Reaktion, die Probe nach Adamkiewicz, die Xanthoprotein- und Schwefelbleireaktion fielen positiv aus.

e) Ichthylepidin nennt *Mörner* ein neben dem Collagen in den Schuppen vieler Fische vorkommendes Albumoid, welches er dadurch gewann, daß er die makroskopisch gut gereinigten Schuppen tagelang bei niederer Temperatur successive mit 0,5%iger Salzsäure, 0,05%iger Kalilauge, 0,01%iger Essigsäure und destilliertem Wasser auslaugte; darauf wurde der Rückstand mit 0,1%iger Salzsäure mehrere Tage digeriert und mit Chloroformwasser ausgewaschen. Das Ichthylepidin hatte die Form der Schuppen beibehalten und zeigte unter dem Mikroskop ein Netz feiner Fibrillen. In Wasser, auch beim Kochen unter Druck bei 120—125° löste

es sich nicht, in verdünnten Alkalien und Säuren nur in der Siedehitze, in konzentrierten Alkalien und Säuren auch schon in der Kälte. Pepsinsalzsäure bewirkte, ebenso wie Trypsinalkali bei + 40° glatte Lösung. Von den Eiweißreaktionen fiel die Millonsche Reaktion und die Xanthoproteinreaktion besonders intensiv aus (ähnlich dem Membranin), die Biuretreaktion und die Schwefelbleiprobe waren positiv, die Probe nach Adamkiewicz negativ. Bei der Bestimmung von Stickstoff und Schwefel fand *Mörner:*

N = 15,98 (Maximum 16,38)
S = 1,09 (» 1,22).

Der Aschegehalt war stets außerordentlich gering. *Mörner* stellte das Ichthylepidin auf Grund seiner Eigenschaften zwischen Keratin und Elastin.

Green und *Tower* haben die Schuppen amerikanischer Fischarten auf Ichthylepidin untersucht und fanden dasselbe in den Schuppen der Teleostier, dagegen nicht in denen der Elasmobranchier oder den Schuppen von Mola Mola (Sunfisch) vor. Auch in den Ganoidschuppen des Störs konnten sie Ichthylepidin nachweisen.

f) Die «Horn»fäden der Fischflossen, speziell die des Haifisches Mustelus laevis, untersuchte *Krukenberg;* er isolierte daraus eine Substanz, die er «Elastoidin» nannte und welche in ihrem reaktionellen Verhalten wirklich dem Elastin nahestand; allein ihr geringer Kohlenstoffgehalt unterschied sie wieder von demselben.

Krukenberg gibt folgende analytischen Werte für das Elastoidin an:

C = 49,83
H = 6,11
N = 15,97
O + S = 28,09.

Ein «Keratinoid» stellte *Hedenius* aus der Hornschicht des Muskelmagens der Hühner dar, indem er diese Schicht durch sehr verdünntes Ammoniak, essigsäurehaltiges Wasser, destilliertes Wasser, Alkohol und Äther erschöpfte. Die

Substanz zeigte sich gegenüber Verdauungsfermenten fast völlig unangreifbar; auch überhitzter Wasserdampf brachte sie nicht in Lösung. Sie löste sich dagegen in konzentrierter Salzsäure und in 5—10%iger Kalilauge bei Zimmertemperatur; letztere Lösung enthielt ein Alkalialbuminat und Albumosen. Die Millonsche, die Xanthoprotein-, Furfurol- und Schwefelbleireaktion fielen positiv aus; bei der Hydrolyse wurden Leucin, nur wenig Tyrosin und kein kohlehydratartiger Komplex nachgewiesen.

g) Eine eigentümliche Zwischenstellung zwischen Elastin und Keratin nehmen die Eihüllen einiger monotremer Säugetiere (Ameisenigel), sowie diejenigen verschiedener Reptilien und Fische ein. Das wechselvolle Verhalten dieser Substanzen gegenüber chemischen Agentien sowie Verdauungsfermenten ist wahrscheinlich bedingt durch eine den Albuminoiden typisch zukommende Eigenschaft: nämlich durch den Prozeß des Alterns. Während wir im allgemeinen in den echten Eiweißkörpern infolge steten Ersatzes verbrauchter Substanz im Organismus Produkte von konstanter Zusammensetzung und stets gleichen Eigenschaften finden, lassen sich bei den Albuminoiden in den frisch abgeschiedenen und den schon länger von der bildenden Zelle separierten Teilen ältere und jüngere Bildungen meist gut unterscheiden. Das charakteristischste Beispiel hierfür sind die genannten Eihüllen.

Dem Elastin scheinbar noch am nächsten stehen die Eischalen von Tropidonotus natrix *(Hilger)* und Mustelus laevis; die letzteren fand *Krukenberg* in kalter Natronlauge unlöslich, dagegen verdaulich durch Pepsin und Trypsin. Über den Schwefelgehalt der Substanz existieren leider keine Angaben. Bereits deutliche Altersunterschiede haben sich bei der Untersuchung der Eihüllen von Coluber natrix geltend gemacht: *Hilger* fand dieselben — er hatte älteres Material in Händen — in kalter konzentrierter Kalilauge, ebenso in Säuren unlöslich und außerdem schwefelfrei. Er fand ihre Zusammensetzung zu: C = 54,68%, N = 16,37%, und sprach die Substanz als echtes Elastin an. *Engel* dagegen

untersuchte ausgeschnittene, also jugendliche Eier und fand sie weniger widerstandsfähig gegen Laugen; *Krukenberg* schließlich zeigte, daß die fraglichen Eihüllen gegen Verdauungsfermente durchaus resistent sind. Diese Substanz verdient wohl den von *Neumeister* vorgeschlagenen Namen «Kerato-Elastin».

Die Eihüllen von Echidna aculeata (Ameisenigel) untersuchte *Neumeister*. Zur Reinigung der in Wasser etwas quellenden, lederartigen Membranen von gelber bis gelbbrauner Farbe verfuhr *Neumeister* so, daß er das Material 24 Stunden lang mit 1%iger Sodalösung digerierte, mit destilliertem Wasser auslaugte und dann noch einen Tag in 1%ige Salzsäure verbrachte. Die Substanz gab die Xanthoprotein- und die Millonsche Reaktion sehr scharf, ebenso fiel die Schwefelbleiprobe und die Biuretreaktion positiv aus. 2%ige Kalilauge löste leicht beim Erwärmen, 50%ige Lauge bewirkte auch in der Kälte nach vier Tagen völligen Zerfall. Konzentrierte Schwefelsäure führte Lösung herbei; verdünnte Säuren (5%) veränderten die Substanz auch nach Wochen nicht. 5%ige Salzsäure löste dagegen in der Siedehitze, ohne einen reduzierenden Körper abzuspalten. Von Pankreassaft wurde keine Veränderung hervorgerufen, jedoch löste energisch wirkender Magensaft nach 48 Stunden vollständig. Der Schwefelgehalt der Substanz wurde zu 5% bestimmt. Dieselbe Verschiedenheit im Verhalten gegenüber den Verdauungsfermenten traf *Krukenberg* bei jugendlichen Eihüllen (dem Uterus entnommen) von Scyllium stellare und von Scyllium canicula; ältere Schalenhäute zeigten vollkommene Unverdaulichkeit, auch gegenüber Pepsin.

Die Eihüllen von Scyllium catulus analysierte *Krukenberg;* er fand dabei die Werte:

C = 51,50
H = 6,51
N = 15,34
S = 0,88 (auffallend wenig)
O = 25,77.

Bereits aus einem «typischen Keratin» sollen bestehen (außer den älteren Eihüllen von Scyllium stellare) die Eihüllen von Raja quadrimaculata *(Schenk)*, Myliobatis aquila *(Krukenberg)*, Pristiorus melanostomus *(Neumeister)*, ferner von gewissen Sauriern und Hydrosauriern, nämlich Calotes jubatus, Ptychozoon homalocephalus, Crocodilus biporcatus (enthält 5,35 % Schwefel). Ob sich bei eingehendem Studium dieser interessanten Albuminoide ihre Zugehörigkeit zu den «echten Keratinen» als tatsächlich herausstellen wird, erscheint zweifelhaft, da die ganz andere Art ihrer Entstehung und Verwendung im Organismus auch auf andere chemische Zusammensetzung hinweist. Auch für das — später zu besprechende — Ovokeratin der Vogeleier hat sich, nachdem man es lange sogar für das allerreinste Keratin gehalten hat, gezeigt, daß diese Schalenhaut trotz ihres hohen Schwefelgehaltes nicht ohne weiteres zu den Keratinen gezählt werden darf, sondern vorerst als Substanz sui generis angesehen werden muß. Die Entscheidung der Frage wird erst durch das vergleichende Studium sowohl der kristallisierenden, einfachen, als auch der noch eiweißartigen (Albumose-)Spaltprodukte der Substanzen herbeigeführt werden.

5. Die echten Keratine, das Neurokeratin und das Ovokeratin.

Als «echte Keratine» bezeichnen wir die Grundsubstanzen der «verhornten» epithelialen Gewebe und zwar besonders die Cutisgebilde:

1. die Oberhaut mit ihren zwei Schichten;
2. die äußeren Schwielen, d. h. sehr starke, haarfreie Verdickungen der Hornschicht der Epidermis;
3. die Nägel, Krallen, Klauen, Hufe;
4. die Hörner;
5. die Haare;
6. die Federn der Vögel;
7. das Schildpatt.

Von den inneren Horngebilden, welche *Schloßberger* aufzählt, seien hier noch die Barten des Walfisches (Oberkiefer)

angeführt; die übrigen von *Schloßberger* verzeichneten Substanzen sind zum Teil schon früher geschildert worden.

Die Keratine gehen, wie man mit ziemlicher Bestimmtheit annehmen darf, direkt aus dem Zelleiweiß durch eine tiefgreifende chemische Veränderung hervor. Die Histologie hat uns drei Substanzen kennen gelehrt, welche bei dem Prozeß der Verhornung auftreten, das Eleïdin, das Pareleïdin und das Keratohyalin; aber es ist noch nicht möglich, sich über deren Zusammenhang mit den sich bildenden Keratinen selbst eine bestimmte Vorstellung zu machen. Nach *Buzzi* ist das Eleïdin ein fettes Öl, das Keratohyalin dagegen eine albuminoide Substanz. Von den Angaben, welche *K. C. Schneider* in seinem Lehrbuch der vergleichenden Histologie über den Verhornungsprozeß macht, sei das Folgende zitiert: «Die Hornzellen unterscheiden sich von den Mittelzellen vor allem durch die homogene Beschaffenheit ihres Sarcs. Die Fäden bleiben erhalten *(H. Rabl)*, sind aber, soweit sie peripher liegen, verhornt und zu einer festen Membran verbunden. Im Innern werden sie durch das Eleïdin, das sich von den „Keratohyalinkörnern" ableitet, verdeckt, treten aber bei vollständiger Verdauung der Zellen deutlich hervor. Während sich in Hinsicht auf die Verhornung alle Elemente der Hornlage gleich verhalten *(Unna)*, ist das Eleïdin in den unteren Schichten (Stratum lucidum) flüssig und färbt sich lebhaft mit Picrokarmin *(Ranvier)*; in den übrigen Lagen erscheint es fester und färbt sich abweichend (Pareleïdin *Weidenreich*).» Nach *H. Apolant* ist das Keratohyalin an der Verhornung überhaupt nicht beteiligt; es verhornt nur die Fibrillarsubstanz der Zellen, da dieselbe immer stärker ausgebildet ist, je intensiver der Verhornungsprozeß vor sich geht, während das Keratohyalin ganz unabhängig davon als Produkt der Interfibrillarsubstanz sich in Eleïdin umwandelt und aus den Zellen austritt. Die Verhornung selbst ist ein diffuser Prozeß ohne Körnchenbildung. Nach *S. B. Selharst* soll Anwesenheit von Keratohyalin die Fettbildung ausschließen und in den keratinhaltigen Geweben soll sich Cholesterinfett vorfinden *(Liebreich)*.

Der chemische Prozeß der Keratinisierung kann keinesfalls in einem einfachen Wasserverlust bestehen, wie *Morochowetz* annahm; was *Krukenberg* mit einer «einfachen Wasserabgabe, die mit Eintrocknung nichts zu tun hat», meint, muß wohl als eine Art von Anhydridbildung verstanden werden: eine Vorstellung, die nicht geeignet sein dürfte, der besonderen quantitativen Zusammensetzung der Keratine gerecht zu werden. *Drechsel* nimmt an, daß eine Substitution von Sauerstoff durch Schwefel und von Leucin durch Tyrosin stattgefunden habe. Diese Ansicht hat eine große Wahrscheinlichkeit; auf sie werde ich später noch zurückzukommen haben.

Auffallend ist die Tatsache, daß es Gewebe gibt, in welchen gerade die verhornten Zellen die größten Massen jener eigentümlichen Pigmente enthalten, welche man mit dem Sammelnamen «Melanine» bezeichnet *(List)*. Bis jetzt besteht keine Klarheit über einen Zusammenhang zwischen Keratinisierung und Melaninbildung, doch ist ein solcher gewiß nicht ausgeschlossen, zumal da der Tyrosinreichtum der echten Keratine einer Bildung von Melanin besonders günstig ist.[1] Nähme man einen Zusammenhang der Art an, so fände auch wohl der hohe Schwefelgehalt vieler Melanine inbezug auf seine Provenienz eine Deutung.

Die echten Keratine geben dieselben Farbenreaktionen wie die nativen Eiweißkörper: die Biuret- und die Xanthoproteinreaktion fällt positiv aus, die Millonsche Probe, wie auch die Schwefelbleiprobe, ist sehr intensiv. Salzsäure färbt bei mehrtägigem Stehen, schneller beim Erhitzen, violett bis blau; mit der starken Säure färben sich Haare purpurrot *(v. Laër)*.

Besonders charakterisiert sind die Keratine durch ihre vollkommene Unlöslichkeit in den Verdauungsfermenten und ihre große Resistenz selbst starken chemischen Agentien gegenüber; es zeigt sich aber, daß jüngere Schichten diese

[1] Ich gehe hier von der Anschauung aus, daß die in den Horngebilden vorkommenden Melanine mit dem Blutfarbstoff nicht in Zusammenhang stehen.

Widerstandsfähigkeit nicht in so hohem Grade besitzen *(Kühne)*. *Smith* gibt an, daß sich Keratin selbst in 10%iger Kalilauge nur in der Hitze löst. In der Kälte wird es erst durch eine 20%ige Lauge in Lösung gebracht. Auch die Resistenz gegenüber starker Schwefelsäure ist eine außerordentliche: eine 40%ige Schwefelsäure vermag auch nach achttägiger Einwirkung bei Zimmertemperatur keine völlige Lösung herbeizuführen. In konzentrierter Salzsäure löst sich das Keratin erst nach mehrwöchentlicher Maceration auf. Nach *Scherer* wird den Horngebilden durch Kalilauge ein durch Essigsäure fällbarer Stoff entzogen. *Scherer* hat denselben analysiert und gefunden:

C = 52,80
H = 7,07
N = 14,80
O + S = 25,33 (vergl. *Mulder, v. Laër*).

Ob dieser Körper ein Spaltprodukt darstellt, ob er vielleicht aus Melanin-artigen Beimengungen stammt, oder, wie *Schloßberger* meint, «teils von dem körnigen Zellinhalt, teils vom Zellkern» herrührt, ist nicht zu entscheiden.

Offenbar existiert noch ein Ferment, welches imstande ist, die Hornsubstanzen zu zersetzen, und dies ist die Verdauungsflüssigkeit der Raupen der Pelzmotte (Tinea pellionella und tapezella, der Mallophaga: Philopteridae, Trichodectes, Liotheidae). Über diesen interessanten Gegenstand fehlen jedoch bis jetzt nähere Angaben.

Die Keratine sind von vielen Untersuchern ausführlich analysiert worden. Über den Aschegehalt der verschiedenen Horngebilde finden wir eingehende Daten bei *Schloßberger*. Im allgemeinen schwankt die Gesamtmenge der Asche zwischen 0,2 und 2%.

Es werden folgende Zahlen angegeben:

Schildpatt	0,3
Haare	0,3—0,2
Horn	0,7
Federspule	0,7

Nägel	1,0
Epidermis	1—1,5
Fischleim	1,1
Federfahne	1,8
Wolle	2,0

(für letztere gibt *Chevreul* 0,3—0,5 % an).

v. Laër analysierte die Asche der Menschenhaare inbezug auf wasserlösliche Salze, Eisenoxyd, Kieselsäure, kieselsauren und phosphorsauren Kalk. Er fand z. B. für braunes Haar:

Asche	H_2O-lösliche Salze	Fe_2O_3	SiO_2 etc.
0,54	0,1	0,06	0,312
1,10	0,51	0,39	0,200.

Man ersieht aus diesen Zahlen, daß auch bei demselben Material der Aschegehalt großen Schwankungen unterliegen kann. Bestimmungen des Kieselsäuregehaltes in Haaren und Federn hat *v. Gorup-Besanez* ausgeführt. Die Kieselsäure häuft sich in den Gebilden mit zunehmendem Alter immer mehr an.

In 1000 Teilen der Haarasche (insgesamt 5—70 ‰) sind enthalten:

230	Teile	Alkalisulfat,
140	»	Calciumsulfat,
100	»	Eisenoxyd,
bis 400	»	Kieselsäure.

In den Nägeln findet sich viel Calciumphosphat; *Drechsel* nimmt an, daß die Kieselsäure in den Federn wenigstens zum Teil als organischer Ester gebunden sei. Wie überhaupt in betreff der sogenannten «Aschebestandteile» der Eiweißkörper, so sind auch im vorliegenden Falle unsere Kenntnisse äußerst gering. Wir berechnen heute noch die anorganischen Bestandteile als Asche, und können nicht angeben, ob dieselben nicht vielleicht doch integrierende Bestandteile des Moleküls selbst bilden. Für den Fettgehalt von Keratinsubstanzen gibt *Schloßberger* an:

Menschenhaare enthalten . . 3,4—5,77 Fett,
Ochsenhorn enthält . . . 2,10 » ,
Büffelhorn » . . 0,22 » .

Von den Elementaranalysen der Keratine seien hier folgende angeführt:

Autor:	Material:	C	H	N	O	S
Scherer	Planta pedis (Mensch)	50,75 bis 51,03	6,76—6,8	17,22	24,93—25,26	
Scherer	Nägel des Menschen	51,09	6,82	16,90	25,19	
Mulder	Pferdehufe	51,10	6,77	17,28	4,60	20,15
Hinterberger	Ochsenhorn	50,8	6,6	16,2	—	—
Scherer	Büffelhorn	51,5 bis 51,9	6,8—6,7	17,3	24,3	
Horbaczewski	Horn Mittelzahlen	50,86	6,94	—	3,36	—
van Laër	Haare (Mensch)	50,65	6,36	17,14	5,00	20,85
Kühne-Chittenden	» »	49,85	6,52	16,8	4,02	23,2
Horbaczewski	» » (rot)	51,16	7,22	—	4,44	—
Scherer	Federspule	52,4	7,2	17,9	22,5	
Mulder	Schildpatt	54,89	6,56	16,77	2,22	19,56
van Kerkhoff	Fischbein	51,86	6,87	15,71	3,60	21,17

Besondere Schwefelbestimmungen führten aus: *v. Bibra*, *Mulder*, *Tilanus*, *Suter* und *Mohr*. Letzterer fand in:

Menschenhaaren . . . . . 4,95—5,34
Tierhaaren . . . . . 3,56—4,35
Gänsefedern 3,16
Hufen . . . . . 2,69—3,5.

v. Bibra fand im Ochsenhorn 3,08 %, im Antilopenhorn 1,3—1,1 %. Da ein Teil des im Keratin vorhandenen Schwefels sehr leicht (schon beim Befeuchten oder Kochen mit Wasser) abgespalten wird, war es von Interesse, zu erfahren, wie groß der «lockergebundene» Anteil des Schwefels sei; *Mörner* fand zwei Drittel der Gesamtmenge abspaltbar. Über Abspaltung des Schwefels haben außerdem berichtet:

Suter, *Mohr*, *Schützenberger*, *Horbaczewski*, *Lindwall*, *Krukenberg* und *Bauer*.

Die niederen Spaltprodukte der Keratine haben eingehende Beachtung gefunden. Vor allem entsteht bei der Säurehydrolyse des Horns sehr viel Tyrosin: 4,58—5% *(Cohn, Piria, Kühne* und *Ewald)*, ferner Leucin, Glutaminsäure und wenig Asparaginsäure *(Hinterberger, Kreußler, Horbaczewski)*. *Hedin* fand Lysin und Arginin. Von schwefelhaltigen Spaltprodukten wurden — außer Schwefelwasserstoff — nachgewiesen: Cystin *(Emmerling, Mörner)*, α-Thiomilchsäure *(Suter)*, Äthylsulfid *(Mörner)*, Methylmercaptan *(Bauer)*, wahrscheinlich auch Thioglycolsäure *(Friedmann)*. Beim Erhitzen mit Barytwasser auf 150—200° gibt Merinowolle:

5,3% Ammoniakstickstoff,
4,3 Kohlensäure,
5,7 Oxalsäure,
3,2 Essigsäure,
1,0 Pyrrol;

weiterhin sollen sich hierbei (nach *Schützenberger* und *Bleunard*) bilden: Capronsäureleucin und -leucein ($C_6H_{13}NO_2$ und $C_6H_{11}NO_2$) 12—15%, außerdem Aminobuttersäure, Aminovaleriansäure, Aminopropionsäure und ein Glycoprotein (? $C_8H_{16}N_2O_4$). Eine sehr exakte Untersuchung der kristallisierten Spaltprodukte des Horns hat *Dörpinghaus* mit Hilfe des vortrefflichen Trennungsverfahrens der Aminosäureester von *E. Fischer* ausgeführt; aus 100 Teilen Horn (getrocknet) ließen sich darstellen:

0,34% Glycocoll,
1,2 Alanin,
5,7 α-Aminoisovaleriansäure,
18,3 Leucin,
3,6 Pyrrolidincarbonsäure,
0,68 Serin,
3 Phenylalanin,
2,5 Asparaginsäure,
3 Glutaminsäure (*Horbaczewski* fand 15%!),
1,7 Pyrrolidoncarbonsäure,
40,02%.

Diese Werte sind selbstverständlich kleiner als die wirklich im Horn vorkommenden Quantitäten der Aminosäuren. *Hofmeister* gibt an, daß ein Kohlehydrat im Keratin enthalten sei (vergl. auch Glycoproteïn von *Schützenberger*); *Kühne* und *Ewald* konnten ein solches nicht finden.

Von den nun zu besprechenden höheren, zum Teil noch Eiweißcharakter tragenden Spaltprodukten der Keratine ist ein von *Scherer* aus alkalischer Keratinlösung gewonnener Körper bereits erwähnt worden. *Liebreich* erhielt durch Hydrolyse des Horns eine schwefelfreie Substanz, das «Keratosolvin» (?) und *Hedin* stellte durch Einwirkung von Salzsäure ein Produkt von der empirischen Formel $C_{14}H_{38}N_4O_{12}SCl_4$ dar. Über alle diese Körper ist genaueres nicht bekannt.

Daß Horn durch überhitztes Wasser aufgelöst werde, beobachteten *Leyer* und *Köller* an Vogelfedern, vor ihnen schon *Vauquelin*. *Krukenberg* benützte diese Art der Zersetzung, um einen Körper albumoseartigen Charakters aus der gewonnenen Lösung durch Kochsalzfällung abzuscheiden; er nannte ihn «Keratinose» und behauptete auch, die Entstehung von Pepton beobachtet zu haben. Genauere Angaben über Verhalten und Elementarzusammensetzung dieses Produktes fehlen.

In neuerer Zeit hat nun *R. Bauer* die Zersetzungsprodukte des Horns unter dem Einfluß überhitzten Wassers studiert und feststellen können, daß zwei Produkte entstehen, welche in ihrem ganzen Verhalten den Atmidkörpern *Neumeisters* entsprechen. Aus der neutralisierten Zersetzungsflüssigkeit fällte *Bauer* durch Sättigen mit Kochsalz zuerst die Hauptmenge eines Atmidkeratins, sodann durch Hinzufügen von Kochsalz-gesättigter Salzsäure Atmidkeratin + Atmidkeratose und endlich die Atmidkeratose selbst.

Das Atmidkeratin, durch Kochsalz, Ammonsulfat, sowie Alkohol fällbar, gibt mit Salpetersäure einen im Überschuß unlöslichen, in der Wärme löslichen Niederschlag. Im Überschuß lösliche Fällungen bewirken bei vorsichtigem Zusatz verdünnte Essigsäure, Salzsäure und Schwefelsäure. Bei der

Kochprobe mit rauchender Salzsäure tritt keine Violettfärbung auf; die übrigen Farben- und Fällungsreaktionen fallen positiv aus. Die Analyse ergab im Mittel:

C = 53,13
H = 6,0
N = 16,43
S = 1,55.

Die Atmidkeratose unterscheidet sich, abgesehen von ihrer Nichtfällbarkeit durch Kochsalz in neutraler Lösung, von dem Atmidkeratin noch dadurch, daß beim Kochen der Keratose mit Salzsäure Violettfärbung auftritt. Ihre Zusammensetzung ist (im Mittel):

C = 53,43
H = 5,24
N = 16,65
S = 1,54.

In der Keratose-freien Lösung konnte *Bauer* kein echtes Pepton, wohl aber bereits Tyrosin nachweisen. Die beiden Spaltungsprodukte werden von Pepsinsalzsäure und von Trypsinalkali angegriffen, aber nur langsam: beide Fermente spalten aus den Atmidkörpern Peptone ab. Beim Zersetzen der Atmidkörper mit heißer Mineralsäure konnte *Bauer* das Auftreten von Deuteroalbumosen nicht beobachten.

Neurokeratin ist die von *Kühne* und *Ewald* entdeckte, von *Kühne* und *Chittenden* weiter untersuchte, in markhaltigen Nerven und in den nervösen Zentralorganen vorkommende Substanz, welche in Alkohol und Äther, in Magen- und Pankreassaft und in verdünntem Ätzkali unlöslich ist. Die Darstellungsweise, welche *Kühne* und *Chittenden* (für Material aus Menschenhirn) beschrieben haben, besteht in einer ausgiebigen Extraktion mittels kaltem und heißem Alkohol und Äther, mehrfach (etwa viermal) wiederholter peptischer und tryptischer Verdauung, Behandlung mit 5‰ Alkalilösung und abermaliger Extraktion mit Alkohol und Äther. Man kann das Entmarken vor und nach der Ver-

dauung vornehmen; die Darstellung nach der zweiten Folge hat den Beweis geliefert, daß die unlösliche Substanz nicht erst durch das Entmarken (Kochen mit Alkohol) erzeugt wird, sondern wirklich präformiert im Nervensystem vorkommt. Pigmente, welche dem aus dem Gehirn (grauer Substanz und ganzes Gehirn) gewonnenen Neurokeratin anhafteten, ließen sich auf mechanischem Wege entfernen.

Die Mengen, in welchen das Neurokeratin in nervösen Organen vorkommt, sind folgende:

In myelinfreier trockner Nervensubstanz 1,91
» » » grauer Substanz 3,22
» » » weißer Substanz 33,77

% Neurokeratin, woraus sich für das ganze Gehirn 15,20 % der entmarkten Trockensubstanz ergeben. — Für den frischen Nervus ischiadicus vom Menschen bestimmte *Josephine Chevalier* den Neurokeratingehalt zu 0,30 %, *Kühne* und *Chittenden* zu 0,316 %. Bei der Zersetzung des Neurokeratins durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure (36—48 Stunden lang) wurde Leucin und Tyrosin, letzteres in überwiegender Menge gefunden.

Neurokeratin löst sich schwer in heißer, starker Kalilauge; beim Neutralisieren fällt ein reichlicher Niederschlag aus. Konzentrierte Schwefelsäure bringt die Substanz nur langsam zur Lösung.

Die Analysen, welche *Kühne* und *Chittenden* ausführten, ergaben:

Material:	C	H	N	S	O	Asche
Gehirn eines Kindes 8 Mon.	56,82	7,54	13,04	1,75	20,85	1,55
Gehirn eines 21jährigen	57,29	7,54	12,90	2,24	20,03	2,38
Gehirn eines Erwachsenen	58,45	8,02	11,46	1,87	20,20	0,74.

Der Bauchstrang des Hummers, welcher aus Nervenfasern und Ganglien besteht, besitzt keine neurokeratinartige

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Stützsubstanz; vielmehr wird dieselbe, wie *Kühne* und *Chittenden* gezeigt haben, hier aus Chitin gebildet.

Das Schalenhautkeratin des Hühnereis — «Ovokeratin» — ist von *Lindwall* untersucht worden. Es steht wahrscheinlich den echten Keratinen näher, als die Keratoelastine verschiedener anderer früher beschriebener Wirbeltiereier; aber ein echtes Keratin ist es nicht. Zwar besitzt es die Resistenz und auch den hohen Schwefelgehalt der echten Keratine; aber unter seinen Spaltprodukten fehlt — wie *Mörner* gegenüber *Lindwall* angibt — das Tyrosin vollkommen.[1] — Seine Zusammensetzung fand *Lindwall* zu:

C = 49,78
H = 6,64
N = 16,43
S = 4,25.

Digeriert man das sorgfältig gereinigte Ovokeratin auf dem Wasserbade mit 1—2 %iger Alkalilauge, so tritt Lösung ein, Schwefel wird abgespalten, und es bildet sich ein Alkalialbuminat und Pepton. Neutralisiert man die alkalische Lösung, so fällt ein Körper aus, welcher folgende Zusammensetzung besitzt:

C = 53,4
H = 6,68
N = 16,11
S = 2,14
O = 22,63.

Das Filtrat gibt noch eine intensive Biuretreaktion; es liefert beim Eindampfen einen nicht gerinnenden, leicht löslichen und diffundierbaren Eiweißkörper, den *Lindwall* als echtes Pepton anspricht.

[1] Ob der Gesamtschwefel hier als Cystinschwefel vorhanden ist, ist noch ungewiß *(Mörner)*.

Experimentelle Studien.

Die Methode der Untersuchung.

Aus der vorstehenden Übersicht über die bisherigen Untersuchungen der Albuminoide geht hervor, daß zu deren Erforschung zwei Wege eingeschlagen worden sind, und zwar 1. die totale Hydrolyse bis zur Isolierung kristallisierter Spaltprodukte und 2. die Zerlegung in höhere, noch im wesentlichen Eiweißcharakter zeigende Teilgruppen. Was nun den ersteren Weg betrifft, so muß wohl zugestanden werden, daß derselbe uns höchstens zu der sicheren Überzeugung von dem engen Zusammenhang zwischen Albuminoiden und nativen Eiweißkörpern geführt hat. Die hydrolytischen Untersuchungen haben in allen Fällen die Anwesenheit von Aminosäuren ergeben, wie sie auch bei der Spaltung des nativen Eiweißes auftreten, und wenn auch der eine oder andere Vertreter der genannten Körperklasse in einem bestimmten Falle nicht auffindbar war, so zeigte sich doch meistens eine weitgehende Übereinstimmung jener einfachsten Bausteine des Eiweißmoleküls bei den verschiedensten Untersuchungsobjekten.[1] Wenn es sich nun darum handelte, prägnante Unterschiede zwischen den einzelnen Albuminoiden festzustellen, bezw. zuerst einmal größere Teile von ihnen abzuspalten, welche als Träger einer für das betreffende Material charakteristischen chemischen Eigenart angesprochen werden konnten, so mußte von einer Anwendung tief eingreifender Spaltmethoden abgesehen werden. Zur Gewinnung solcher Teile, welche wohl Albumosecharakter aufweisen müssen,

[1] Übrigens bedürfen die meisten diesbezüglichen Angaben einer Nachprüfung mit Hilfe der *Fischer*schen Trennungsmethode.

steht uns nun für die nativen Eiweißkörper die Anwendung peptischer und tryptischer Verdauung zur Verfügung, nicht aber für die meisten Albuminoide. Zwar wissen wir vom Glutin und Elastin, den beiden relativ eingehend studierten Albuminoiden der Vertebraten, daß dieselben bei lange andauernder Pepsin- oder Trypsineinwirkung unter Bildung von Albumosen und Peptonen in Lösung gehen; auch sollen jugendliche Formen gewisser Schalenhautkeratine der spaltenden Wirkung dieser Fermente unterliegen. Allein die Resistenz der meisten Albuminoide gegenüber Fermenten ist so groß, daß es den Untersuchern zweckmäßig erschien, die Fermentation durch geeignete, analog verlaufende, rein chemische Prozesse zu ersetzen. Neben der Einwirkung verdünnter Alkalien, welche zu Alkalialbuminaten und schließlich zu Albumosen und Peptonen führte, erwies sich die Zersetzung der zu untersuchenden Materien durch überhitzten Wasserdampf als brauchbar zur Erzielung einer Peptonisierung.

So fand *Hofmeister*, daß Gelatine bei 30stündigem Kochen in Semiglutin und Hemicollin zerfällt; *Chittenden*, ebenso *Klug*, fanden bei der Spaltung des Leims mit Pepsinsalzsäure eine Proto- und eine Deuterogelatinose.

Beim Elastin unterschieden *Horbaczewski, Chittenden* und *Schwarz* Hemielastin und Elastinpepton, welche sie durch peptische bezw. tryptische Verdauung, wie durch Einwirkung von sehr verdünnter Salzsäure und auch von überhitztem Wasserdampf gewannen. Nur die letztere Spaltmethode fand Anwendung auf das Keratin; *Krukenberg* machte zuerst hierüber einige kurze und durchaus unzureichende Angaben. Von diesen ging *Rich. Bauer* bei einer erneuten Untersuchung aus und beschrieb die entstehenden Spaltprodukte des Keratins eingehend. — *Krukenberg* hat auch, wie bereits geschildert, das Spongin mit überhitztem Wasserdampf behandelt und einem hierbei gewonnenen — nicht einmal analysierten — Produkt den Namen «Spongionose» verliehen.

Die hier kurz rekapitulierten Resultate sind für die Zwecke genauerer Charakterisierung der Ausgangsmaterialien, sowie für deren Vergleichung mit den nativen Eiweißkörpern

aus zwei Gründen nicht wohl geeignet. Zuvörderst muß bemerkt werden, daß die durch überhitzten Wasserdampf gewonnenen Albumosen den *Neumeisterschen* sog. Atmidkörpern entsprechen, deren völlige Aufklärung — Zusammenhang mit den echten Albumosen, Unterschiede im Aufbau etc. — bis jetzt noch nicht gegeben worden ist. Ferner ist für die Einheitlichkeit der aus peptischen bezw. tryptischen Verdauungslösungen isolierten echten Albuminoid - Albumosen, soweit die Untersuchung vor dem Erscheinen der grundlegenden Arbeiten *E. P. Picks* stattfand, keine Garantie geboten.

Zur Charakteristik einiger Albuminoide sind auch eigentümliche Zersetzungsprodukte herangezogen worden, so das «Apoglutin» des Leims und das «Jodospongin» bezw. «Spongomelanoidin» des Spongins. Aber diese Körper stellen bereits weitere, zum Teil recht komplizierte. Umwandlungsprodukte dar und gestatten kaum einen Rückschluß auf ihre Muttersubstanzen.

Die besondere Aufgabe, welche ich mir nun mit vorliegender Arbeit gestellt habe, war

1. eine Methode zur Spaltung anzuwenden, welche gestattet, die nicht verdaulichen Albuminoide in Albumosen zu zerlegen und
2. diese Albumosen analog dem von *Pick* auf das Pepton-Witte-Gemisch angewandten Verfahren zu trennen und zu charakterisieren.

Es war zu erwarten, daß ein solches Vorgehen Anhaltspunkte zu einem Vergleich der Albuminoide untereinander und mit den nativen Eiweißkörpern geben müsse, sowie, daß die Frage nach der Lokalisation gewisser Gruppen — z. B. der halogenbindenden im Spongin — ihrer Beantwortung näher gebracht werden könne. —

Der Weg, den ich zur Zerlegung der von mir untersuchten Albuminoide einschlug, ist durch die Erfahrungen vorgezeichnet, welche eine Reihe von Untersuchern an nativen Eiweißstoffen gesammelt haben. Es ist — früher von *Panum, Soyka, Mörner, Danilewsky, Johannsen*, ferner *Harnack, Bülow*

und *Werigo*, in neuester Zeit von *Goldschmidt* und *Zunz* — festgestellt worden, daß eine native Eiweißlösung unter der Einwirkung verdünnter Mineralsäuren in Acidalbumin (d. h. das Salz einer Säure mit denaturiertem Eiweiß) und weiter in Albumosen und Peptone zerfällt. Ob die Acidalbuminbildung der Albumosebildung vorausgeht, ist nicht mit Sicherheit zu entscheiden, doch hat die Annahme einer derartigen Aufeinanderfolge eine große Wahrscheinlichkeit für sich. Jedenfalls ist sicher — wie auch *Cohnheim* (Chemie der Eiweißkörper) bemerkt —, daß wir in der Spaltung mit verdünnten Mineralsäuren eine Methode der Albumosegewinnung zu erblicken haben, welche sich von der Pepsinverdauung nur durch den rascheren Ablauf der letzteren bis zur Peptonbildung unterscheidet. Wichtig war nun, die Art der anzuwendenden Mineralsäure, und vor allem deren Konzentrationsgrad festzusetzen. Für meine Versuche mit dem Spongin verwandte ich Schwefelsäure, weil dieselbe auch von *Harnack* zu seiner ersten Darstellung des Jodospongins benutzt worden war. Ich hoffte bei Beginn dieser Versuche noch, ein dem Jodospongin ähnliches Produkt in größerer Menge gewinnen zu können, und behielt, als sich dies letztere als nicht möglich herausstellte, die einmal erprobte Säure für Spongin sowohl, als auch die beiden Keratine bei. Bei einer Verwendung von Salzsäure findet die Bildung von Hydrochloraten statt[1], deren Zerlegung (besonders beim Spongin) sehr umständlich und mit beträchtlichen Verlusten verknüpft ist, wovon ich mich mehrfach habe überzeugen können. Die Beseitigung der Schwefelsäure, bezw. Zerlegung eventl. gebildeter Sulfate, gelingt im allgemeinen leichter.

Was die Konzentration der Säure betrifft, so mußte sich dieselbe natürlich nach dem zu untersuchenden Material richten. Die Versuche haben es als vorteilhaft erscheinen lassen, für das Spongin und das Schalenhautkeratin des

[1] Natürlich sind die Produkte der Hydrolyse nach ihren Reaktionen die gleichen, wie bei Anwendung von Schwefelsäure.

Hühnereis, — welches ich der Kürze halber als «Ovokeratin» bezeichnen möchte —, eine halbprozentige, für das Keratin des Horns eine ein-, höchstens zweiprozentige Säure zu wählen. Diese sehr verdünnte Säure mußte aller Voraussicht nach die Produkte der peptischen Verdauung zu liefern imstande sein, ohne doch durch tiefergreifende Veränderungen den Charakter der zu gewinnenden Teilgruppen wesentlich zu beeinflussen. —

Auch die von *Paal* ausgearbeitete Methode der Eiweißzerlegung mittels sehr verdünnter Alkalilauge habe ich in den Kreis meiner Versuche über das Spongin einbezogen, allerdings ohne den gewünschten Erfolg. Ich vermutete bei einem derartigen Vorgehen Produkte zu erhalten, welche sich mit der von genanntem Autor dargestellten Protalbin- und Lysalbinsäure vergleichen ließen, kam jedoch zu keinem ausschlaggebenden Resultat. Näheres über diese Untersuchungen soll weiter unten mitgeteilt werden. —

Die Trennungsmethode der aus den Albuminoiden gewonnenen Albumosen war durch die Arbeiten *E. P. Picks* ohne weiteres gegeben. Es sei hier, ohne die genauen Angaben Picks eingehend zu wiederholen, nur auf die Punkte hingewiesen, in welchen sich meine Untersuchungen von den seinen unterscheiden. Es wurden vor allem nur die Albumosen, d. h. die durch Ammonsulfat bezw. Alkohol fällbaren, nicht diffusiblen Anteile der Hydrolyse berücksichtigt, dagegen nicht die Peptone[1], welch letztere ja noch nicht so eingehend studiert sind, daß man Anhaltspunkte zu Vergleichen finden könnte. Im Verlaufe der Arbeiten hat sich herausgestellt, daß hauptsächlich die primären Albumosen, und unter diesen wieder die Heteroalbumose besonderes Interesse für sich in Anspruch nehmen dürfen.

Bei der Untersuchung der sog. «primären» Albumosen habe ich mich denn auch genau an die Vorschriften gehalten, welche Pick zu deren Reindarstellung und Charakterisierung gibt. Die Deuteroalbumosen dagegen habe ich noch nicht

[1] D. h. *Picks* Peptone α und β.

so weit differenzieren können, als es Pick bei den Deuterofibrinosen gelang. Besonders beim Spongin war dies völlig unmöglich; bei dem Keratin blieb das Hauptcharakteristikum der Deuteroalbumose A, der besonders hohe Schwefelgehalt, aus und die Zerlegung der Deuteroalbumose B in drei wohlunterscheidbare Fraktionen scheiterte an der stets allzugeringen Ausbeute. Eine Deuteroalbumose C habe ich in keinem Falle gewinnen können.

Untersuchung des Spongins.

Zu den im Folgenden zu beschreibenden Versuchen stand mir zweierlei Material zur Verfügung und zwar gewöhnliche, zumeist sehr große Badeschwämme (Euspongia) und eine kleinere Menge Kakospongien. Diese letzteren verdankte ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Professor Dr. *R. Hertwig*, auf dessen Anregung die zoologische Station in Rovigno mir das Material überließ.

Die Reinigung der Schwämme wurde mit besonderer Sorgfalt vorgenommen: zuerst wurden auf mechanischem Wege die Konkremente möglichst vollständig entfernt und die Schwämme mit Wasser abgespült. Sodann wurden dieselben in sehr kleine Stückchen zerschnitten und drei Tage lang in der Kälte mit einer 10—15 %igen Salzsäure, welche ich jeden Tag erneuerte, digeriert. Nach gutem Abpressen der Säure wusch ich die jetzt nicht mehr bräunlich, sondern hellgelb gefärbten Stücke zuerst mit heißem, dann mit kaltem, fließendem Wasser längere Zeit aus, bis jede Spur der Säure verschwunden war, spülte schließlich mit destilliertem Wasser einige Male nach und trocknete das Material. Die Einführung verdünnter Kalilauge in die Reinigung erwies sich hier als zwecklos. — Die Reinigung der Kakospongien mußte mit etwas stärkeren Reagentien ausgeführt werden. Nach der Entfernung der hier sehr reichlichen Konkremente und anhaftenden tierischen Beimengungen ließ ich fünf Tage lang kalte 20%ige Salzsäure einwirken; die verbleibende, fast schwarze faserige Masse wurde mit Wasser völlig ausge-

waschen und dann zwei Tage lang mit kalter 5 %iger Kalilauge digeriert. Hierbei lösten sich die schwarzen, offenbar nicht sponginartigen Anteile völlig auf und das Material erschien jetzt in einem reinen Braun. Es wurde sodann noch einen Tag hindurch mit verdünnter Essigsäure und zuletzt, wie für das Euspongiamaterial beschrieben, mit heißem und kaltem Wasser behandelt. Im Gegensatz zu dem Spongin des Badeschwammes zeigt das Spongin der Kakospongien eine etwas andere physikalische Beschaffenheit: es ist härter als dieses und ziemlich spröde. Man könnte glauben, das Kakospongin habe wirklich Ähnlichkeit mit einem Keratin; doch hat sich im weiteren herausgestellt, daß die beiden Sponginmaterialien sich chemisch vollkommen gleichen und mit den Keratinen keinerlei Verwandtschaft zeigen.

Zunächst stellte ich die Reaktionen des reinen Spongins fest. Die Substanz löst sich ziemlich leicht bei Wasserbadtemperatur in verdünnter Kalilauge, schwerer in Sodalösung, mit braunroter Farbe. Um die Biuretreaktion auszuführen, verdünnte ich die alkalische Lösung bis zu hellerer Farbe; bei Zusatz von einigen Tropfen Kupfersulfat trat Violettfärbung auf.

Beim Kochen mit konzentrierter Salzsäure beobachtete ich keine Blaufärbung (vgl. auch *Posselt*); die Xanthoproteinreaktion fand ich stark, die Probe nach *Molisch* (konzentrierte Schwefelsäure + α-Naphtol) war positiv, die Probe nach *Adamkiewicz* negativ. Über die *Millonsche* Probe (Anwesenheit von Tyrosin) wird später zu sprechen sein.

Von besonderem Interesse war die Jodprobe: dieselbe fiel positiv, aber nicht sehr stark, aus. Die hierbei in Anwendung kommende alkalische Schmelze (Ätznatron + Natronkalk) gibt beim Ansäuren den Geruch nach flüchtigen Fettsäuren, aber keinen deutlichen Indol- oder Skatolgeruch. — Die Schwefelbleiprobe war positiv, jedoch nicht stark. Auffallend war, daß das Spongin trotz der intensiven Reinigung noch eisenhaltige Asche in ziemlicher Menge enthielt: *Harnack* fand dagegen das Eisen hauptsächlich in den Konkrementen, nicht in der organischen Substanz lokalisiert. —

Das reine Sponginmaterial wurde nun der Einwirkung verdünnter Schwefelsäure in der Wärme ausgesetzt. Bei den ersten Versuchen kam eine 1 %ige Säure zur Anwendung; hierbei schien es jedoch, als ob die Schwefelsäure stark oxydierend einwirke, da Geruch nach schwefliger Säure und Abscheidung von Schwefel auftrat. Ich stellte deshalb die weiteren Versuche mit einer nur ½ %igen Säure an, in der Hoffnung, die sich bildenden Albumosen auf diese Weise vor weiteren allzu tiefen Eingriffen schützen zu können[1].

Etwa 500 g Spongin wurden mit 2 l ½ %iger Schwefelsäure am Rückflußkühler über einem Ofen mit kleiner Flamme langsam bis zum ganz schwachen Sieden erhitzt. Nach etwa zwei Stunden sank das Material zusammen, und die Lösung färbte sich dunkelrot; nach sechs, höchstens sieben Stunden wurde die Zersetzung unterbrochen: das Spongin hatte sich, bis auf einen geringen huminartigen Rückstand, in der Säure gelöst[2].

Die Zersetzungsflüssigkeit wurde von dem Rückstand abkoliert, filtriert, mit Ammoniak neutralisiert — wobei sich kein Niederschlag bildete, sondern eher Klärung der etwas opalisierenden Lösung eintrat — und vorsichtig auf dem Wasserbad eingeengt. — Sehr auffallend war der bei allen Versuchen ohne Ausnahme sowohl am Filtrat als am Zersetzungsrückstand zu konstatierende deutliche Jodoformgeruch. Diese Beobachtung stimmt überein mit einer Angabe von *Hundeshagen*, welcher das Auftreten dieses Geruchs bei der Fäulnis tropischer Kakospongien beobachtet hat. Ich habe deshalb auch einen Fäulnisversuch mit Euspongien angesetzt, aber den bei der Säurehydrolyse erhaltenen typischen Geruch auch nach Monaten nicht wahrnehmen können. Um das Jodoform, dessen Erscheinen bei der Hydrolyse für die Erkenntnis der Bindungsweise des Jods gewiß von einiger Bedeutung ist, einwandfrei nachweisen zu können,

[1] Hierzu vergleiche das später über den niedrigen C-Gehalt der Heterosponginose Gesagte.

[2] Bei einigen Versuchen wurde nach Ablauf der angegebenen Zeit die Säure gewechselt und das Erhitzen noch 5—6 Stunden fortgesetzt.

habe ich zahlreiche Isolierungsversuche angestellt, jedoch stets nur mit dem wenig befriedigenden Erfolg, daß sehr geringe Mengen einer gelben, in Blättchen kristallisierenden Substanz, welche den typischen Jodoformgeruch aufwies, in Wasser unlöslich, in Alkohol und Äther leicht löslich und stark jodhaltig war, erhalten wurden.

Ich extrahierte sowohl Lösung, als Rückstand des Spongins erschöpfend mit Äther, immer ohne das gewünschte Resultat einer größeren Ausbeute. Ein hydrolytischer Versuch, welcher in verschiedenen kurzen Zeitintervallen unterbrochen wurde, zeigte, daß der Jodoformgeruch von einem gleich zu Anfang der Zersetzung entstehenden Spaltprodukt herrühren müsse. — Die ätherischen Extrakte enthielten in allen Fällen Beimengungen von Fettsäuren; destillierte man die Zersetzungsflüssigkeit mit Wasserdampf, so konnte im Destillat Essigsäure nachgewiesen werden. — Jodwasserstoffsäure fand sich in geringer Menge vor. —

Ich will nun zuerst die weitere Aufarbeitung der Lösung beschreiben, da die aus ihr gewonnenen Produkte die Hauptresultate vorliegender Untersuchung darstellen; die Behandlung des säureunlöslichen Rückstandes gestattete keine Schlüsse bezüglich des Charakters und Aufbaus des Spongins. Die Reaktionen der Lösung ergaben das Bild einer typischen Albumose- bezw. Peptonlösung: Essigsäure, Salzsäure und Schwefelsäure gaben keine Fällung, wohl aber Salpetersäure; Trichloressigsäure, Gerbsäure und Phosphorwolframsäure gaben intensive Fällungen. Die Biuretreaktion war violett, die Reaktion nach Molisch blauviolett, die Reaktionen nach Adamkiewicz und nach Millon negativ. Nach Totalsättigung mit Ammonsulfat, wobei die Albumosen ausgeschieden wurden, war die Lösung noch hellgelb, zeigte eine rotviolette Biuretreaktion, wie sie den Peptonen zukommt, und gab mit Phosphorwolframsäure und den übrigen «Alkaloidreagentien» — welche ja auch Peptone fällen — starke Niederschläge.

Zur Isolierung der Albumosen — die ich als «Sponginosen» bezeichnen will — benützte ich, wie bereits gesagt, das

Verfahren *E. P. Picks*, welches die Fällbarkeit durch Ammonsulfat mit der Löslichkeit bezw. Unlöslichkeit einzelner Albumosefraktionen in Alkohol bestimmter Konzentration zur Trennung verwertet.

A. Die Heterosponginose.

Das beschriebene neutrale Hydrolysat wurde zuerst mit Essigsäure wieder sehr schwach angesäuert und dann durch Versetzen mit dem gleichen Volumen einer gesättigten Ammonsulfatlösung auf Halbsättigung gebracht.

Hierbei schieden sich die «primären» Sponginosen, d. h. Hetero- und Protosponginose in Form hellbrauner Flocken ab. Schon nach einstündigem Stehen war die Abscheidung vollkommen, die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit (nur geringe Mengen hatten sich als Krusten an der Flüssigkeitsoberfläche abgeschieden) vollkommen klar. Um nun die beiden primären Sponginosen von den Nachbarfraktionen vollkommen zu trennen, wurde der Niederschlag, nach gutem Abpressen und Auswaschen mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung, abermals in Lösung gebracht und ein zweites Mal gefällt. Als ich nun Lösung und Fällung ein drittes Mal wiederholen wollte, machte ich die Beobachtung, daß bereits ein sehr großer Anteil des Niederschlags unlöslich geworden war, d. h. daß eine Dysalbumose sich gebildet hatte. Dieses Unlöslichwerden der Albumosen bei Umfällung hat auch *Pick* an den Fibrinosen wahrgenommen und dieser Umstand ist ein Grund für die stete Verringerung der Ausbeuten; allein eine mehrmalige Umfällung der Albumosen kann im Interesse sicherer Isolierung nicht umgangen werden. Übrigens konnte ich beobachten, daß meine Sponginose, ebenso wie *Picks* Heterofibrinose, unter Einwirkung verdünnter Sodalösung wieder zum großen Teil in lösliche Heterosponginose zurück verwandelt wird. Auch durch Zusatz einiger Tropfen verdünnter Schwefelsäure war es möglich, die Dysalbumose in Lösung zu bringen, ohne die Untersuchung zu beeinträchtigen.

Die Trennung der Heterosponginose von der Protosponginose wurde nach zwei Methoden vorgenommen und zwar sowohl nach der alten Methode von *Kühne* und *Chittenden* auf Grund der Tatsache, daß sich bei der Dialyse die Heteroalbumose unlöslich abscheidet und die Protosponginose in Lösung verbleibt, als auch nach *Pick* in folgender Weise: die umgefällten Sponginosen wurden in einer etwa 10%igen wässerigen Lösung mit dem halben Volumen 95%igen Alkohols versetzt. Der auf Seide kolierte, abgepreßte Niederschlag wurde abermals in heißem Wasser gelöst, niedergefällt und die Fällung und Lösung noch dreimal wiederholt. Die alkoholischen Filtrate enthielten nun die Protosponginose, der Niederschlag stellte die Heterosponginose dar. Dieselbe wurde zuerst mit 32%igem, dann mit 95%igem Alkohol ausgewaschen, mit Äther nachgespült und im Vakuum, dann bei 100° getrocknet. Um ev. gebildetes Albumosesulfat zu zerlegen[1], löste ich die Heterosponginose in 10%igem Ammoniak und fällte mit Essigsäure; es zeigte sich hierbei, daß die Sponginose durch Essigsäure nicht vollkommen gefällt werden konnte — eine Beobachtung, die auch *Oswald* an seinen Jodalbumosen machte — und ich schreibe dies dem Umstande zu, daß ja die Heteroalbumosen überhaupt in Essigsäure löslich sind. Ich habe nirgends feststellen können, so oft ich auch an verschiedenem Material diese Umfällung vornahm, daß eine Veränderung der Sponginose im Sinne einer weiteren Spaltung (etwa Abnahme des Jodgehaltes) eingetreten wäre; auch dies stimmt mit einer Angabe *Oswalds* überein. Nach der Umfällung, welche auch für die durch Dialyse gewonnene Heterosponginose in Anwendung kam, wurde das Material abermals der Dialyse gegen destilliertes Wasser

[1] Trotzdem ist, wie später gezeigt werden soll, Grund zu der Annahme vorhanden, daß in der Heterosponginose noch ein Sulfat vorliegt; es war bis jetzt nicht möglich, durch Barytfällung die Schwefelsäure sicher zu entfernen, da sich nicht nur ein schwer lösliches Baryumsalz bildete, welches die Ausbeute bedeutend beeinträchtigte, sondern auch bei Anwendung von Barytwasser schon bei gelindem Erwärmen Jod abgespalten wurde.

unterworfen und in angegebener Weise getrocknet. Hier muß bemerkt werden, daß die Trocknung sehr rasch zu erfolgen hat, da sonst die hellbraune Substanz an der Luft sofort dunkelbraun bis schwarz wird.

Die folgende Beschreibung bezieht sich auf die Heterosponginose, sowohl des Euspongins wie des Kakospongins, von welch letzterem ich leider wegen Mangels an Material die übrigen Sponginosen nicht darstellen konnte. —

Die Prüfung einer verdünnten Lösung der frisch bereiteten Heterosponginose, welche in völlig trockenem Zustande ein hellbraun gefärbtes, sandiges Pulver darstellt, mit den verschiedenen Reagentien ergab:

1. Die trübe Lösung klärt sich auf Zusatz von Essigsäure; versetzt man eine schwach ammoniakalische Lösung mit derselben Säure oder auch mit Schwefelsäure, so tritt im Augenblick der Neutralisation Trübung auf, welche durch einen geringen Säureüberschuß bereits wieder zum Verschwinden gebracht wird.
2. Verdünnte Salpetersäure (selbst sehr stark verdünnte) erzeugt einen im Überschuß des Fällungsmittels unlöslichen Niederschlag. Derselbe löst sich beim Erwärmen und kommt beim Erkalten wieder zum Vorschein.
3. Halbsättigung mit Ammonsulfat, Sättigung mit Kochsalz bewirken Fällung.
4. Kochsalz und Essigsäure fällt einen in der Hitze löslichen, beim Erkalten wieder auftretenden Niederschlag.
5. Kupfersalze rufen Fällungen hervor, die sich in der Wärme nur unvollständig lösen.
6. Bleiacetat erzeugt einen im Überschusse löslichen, *Alménsche* Lösung (Gerbsäure + Essigsäure) einen unlöslichen Niederschlag.
7. Ferrocyankali + Essigsäure, Pikrinsäure, Gerbsäure, Quecksilberjodid-Jodkali + Salz-

säure, Sublimat und Phosphorwolframsäure geben Niederschläge.

8. Die Biuretreaktion gibt bei starker Verdünnung eine Violettfärbung.
9. Die *Millonsche* Reaktion fällt negativ aus, dagegen ist die Xanthoproteinreaktion positiv: einen schönen gelben Niederschlag erhält man, wenn man die Substanz in der Kälte in reiner Salpetersäure (unter Zusatz von etwas Harnstoff) löst und die Lösung in Wasser eingießt; der Niederschlag löst sich in Alkalien mit rotbrauner Farbe und wird daraus wieder durch Essigsäure gefällt (vergl. *v. Fürths* Xanthoproteinsäure).
10. Die Probe nach *Adamkiewicz* fällt negativ aus; die Probe nach *Molisch* ist zweifelhaft.
11. Die Schwefelbleiprobe ist positiv, aber schwach.
12. Die Jodprobe — angestellt durch Schmelzen mit Alkali und Natronkalk — fällt sehr stark aus.

Die Alkalischmelze der Heterosponginose gibt keinen Indol- oder Skatolgeruch. —

Die Heterosponginose besitzt die Eigenschaften einer Säure, wie auch die einer Base, erstere jedoch in stärkerem Grade: die Substanz bildet Salze mit Schwermetallen, auch ein sehr schwer lösliches Barytsalz. Die Analysen wurden an drei verschiedenen Materialien vorgenommen, und zwar wurde I. nach der Methode von *Pick* durch kombinierte Ammonsulfat- und Alkoholfällung, II. nach *Kühne* durch Dialyse — beide aus Euspongin — und III. nach *Kühne* aus Kakospongin gewonnen. Die Zahlen sind auf aschefreie Substanz berechnet; die Aschemenge ist ziemlich hoch; trotz der jedesmal vorgenommenen lang andauernden Dialyse erhielt ich stets viel Asche, welche hellrot gefärbt war und größtenteils aus Eisenoxyd bestand. Ich habe versucht, der Heterosponginose das Eisen durch Digerieren mit kalter, verdünnter Salzsäure zu entziehen, jedoch ohne Erfolg.

	I.	II.	III.
C	= 45,2	45,18	45,62
H	= 5,9	5,8	5,38
N	= 12,4	12,96	12,97
S	= 1,88	1,9	1,81
J	= 4,56	4,7	4,7
Asche	= 3,4	0,85	1,86.

Die Kohlenwasserstoff- bezw. Stickstoffbestimmung erfolgte in der gebräuchlichen Weise durch Verbrennung mit Bleichromat und vorgelegter Silberspirale, die Bestimmungen des Schwefels und Jods im Einschlußrohr nach Carius; das Jodsilber wurde zur Entfernung von Chlorsilber sorgfältig mit alkoholischem Ammoniak (nach einer von *Oswald* gegebenen Vorschrift) ausgewaschen. —

Da die Heterosponginose zwar eine starke Xanthoproteinreaktion, nicht aber die Reaktion nach Millon zeigte, versuchte ich durch Aufspaltung die aromatische — vermutlich Jod bindende Gruppe — nachzuweisen und zwar einmal durch Oxydation mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung, sodann durch Zersetzung mit starker Salzsäure. Der erste Versuch verlief, wie folgt:

2 g Substanz wurden in Kalilauge gelöst und dann mit Permanganat in Substanz versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf dem Sandbad 5—6 Stunden bei einer Temperatur von 45° erhalten, sodann abermals Permanganat hinzugefügt, bis bei weiterem Erwärmen eine Entfärbung nicht mehr eintrat. Die Lösung wurde von dem gebildeten Braunstein abfiltriert, mit Salzsäure angesäuert und mit Äther mehrere Male extrahiert. Beim Verdunsten der ätherischen Lösung hinterblieb eine geringe Menge einer weißen, blättrigen Substanz von eigentümlich aromatischem Geruch, der aber nicht typisch für die eigentlich erwartete Benzoësäure war. Ich konnte bei der leider allzugeringen Ausbeute nur noch feststellen, daß die Substanz sich schwer in Wasser löste und bei Wasserbadtemperatur sublimierte. Wenn hierdurch auch die Anwesenheit der Benzoësäure selbst — die wohl aus dem Phenylalanin entstanden wäre, welches auch *Pick* als

aromatische Gruppe in der Heterofibrinose annimmt — nicht mit Bestimmtheit nachgewiesen ist, so ist doch wohl daraus auf den aromatischen Charakter des Produktes zu schließen, daß das Sublimat sich in Salpetersäure mit gelber Farbe löst und dann auf Zusatz von Alkali eine rote Farbe zeigt, also eine Gruppe darstellt, welche die Xanthoproteinreaktion der Heterosponginose mitbedingt.

Der zweite Versuch, die Spaltung mit Salzsäure, wurde so vorgenommen, daß 3 g Substanz mit 25 ccm konzentrierter Salzsäure ca. 6 Stunden am Rückflußkühler gekocht wurden. Durch Einleiten von Wasserdampf wurde sodann der größte Teil der Salzsäure entfernt und die Lösung auf dem Wasserbad eingedampft. Der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen und die basischen Produkte wurden mit Phosphorwolframsäure gefällt. Nach Entfernung der überschüssigen Phosphorwolframsäure durch Barytwasser und vorsichtigem Ausfällen des Baryts mit wenig Schwefelsäure wurde die Lösung eingeengt und an ihr sodann die Millonsche Probe auf Tyrosin vorgenommen: dieselbe fiel negativ aus. —

B. Die Protosponginose.

Der alkohollösliche Teil der durch Halbsättigung mit Ammonsulfat gewonnenen Sponginosen wurde nun aus den alkoholischen Filtraten der Heterosponginosefällung dargestellt. Zuerst wurde der Alkohol im Vakuum abdestilliert, der übrigbleibende braune Syrup in Wasser gelöst und durch Halbsättigung mit Ammonsulfat (Hinzufügen des gleichen Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung) gefällt; Lösung und Fällung wurden mehrfach wiederholt, der schließlich erhaltene hellflockige Niederschlag in wässriger Lösung — in welcher vorsichtiger Zusatz von Essigsäure keine Fällung hervorrief — mit Baryumacetatlösung von der Schwefelsäure befreit und der Überschuß an Baryum mit Ammonkarbonat entfernt. Die Barytniederschläge brauchten zum völligen Absetzen 1—2 Tage. Das klare, braunrote Filtrat wurde zum Syrup eingedampft, mit 60 %igem Alkohol aufgenommen, filtriert und aus der möglichst konzentrierten Flüssigkeit die

Protosponginose durch einen großen Überschuß 95%igen Alkohols gefällt. Die Substanz, welche ziemlich hygroskopisch war, wurde nun durch Waschen mit absol. Alkohol, dann mit Äther und schnelles Einführen in das Vakuum über Schwefelsäure entwässert und völlig getrocknet. *Pick* gibt an, daß man auch durch fortgesetztes Umfällen mit Alkohol die Albumosen von dem anhaftenden Ammonsulfat befreien könne; ich habe es aber vorgezogen, hierzu die Barytfällung zu benützen, schon deshalb, weil ich die möglichste Sicherheit erlangen wollte, meine Albumosen frei, nicht, wie es vielleicht durch die Hydrolyse bedingt war, als Sulfate zu erhalten. — Die Protosponginose stellte den weitaus kleinsten Anteil der Albumosen des Spongins dar.

Die reaktionellen Untersuchungen der Protosponginose ergaben, daß dieselbe ähnliche Eigenschaften wie die Heterosponginose besitzt — besonders, wie aus der Darstellung hervorgeht, dieselbe Fällungsgrenze für Ammonsulfat aufweist. Von den Alkaloidreagentien wird auch sie gefällt, in Säuren und Alkalien löst sie sich sehr leicht, die Biuretreaktion fällt positiv aus, die Millonsche Reaktion völlig negativ. Wesentliche Unterschiede von der Heterosponginose bestehen aber in folgenden Punkten: die Protosponginose ist in verdünntem Alkohol löslich, sogar etwas leichter als in Wasser; verdünnte Salpetersäure erzeugt keinen Niederschlag; die Schwefelbleiprobe fällt äußerst schwach aus; die Probe auf Jodgehalt zeigt nur geringe Mengen Jod an; die Reaktion nach Molisch ergibt merkwürdigerweise — trotz genauer Abtrennung der Nachbarfraktionen (Deuterosponginose) — eine rote Färbung. Die Bildung einer unlöslichen Form habe ich hier nicht beobachten können.

Die analytischen Daten sind an dem Material von zwei Darstellungen gewonnen: die Reinigung von I wurde durch mehrfache Alkoholfällung, Barytfällung und langandauernde Dialyse, die von II nur durch Barytfällung und Dialyse bewirkt.

	I.	II.
C =	46,8	46,4
H =	6,9	6,9
N =	12,7	12,4
S =	—	0,49
J =	0,49	0,44
Asche =	1,1	1,3.

Die Zahlen beziehen sich auf aschefreie Substanz; auch hier fand ich die Asche eisenhaltig.

Leider war ich bei den stets sehr geringen Ausbeuten nicht imstande, eine Spaltung der Protosponginose auf Aminosäuren vorzunehmen.

C. Die Deuterosponginose.

Gleichwie es bisher bei den nativen Eiweißkörpern bezw. deren Albumosen, soweit Untersuchungen vorliegen, gelungen war, drei verschiedene Deuteroalbumose-Fraktionen abzuscheiden, würde es, so erwartete ich, auch beim Spongin gelingen, wenigstens die durch ihren Gehalt an Kohlehydratgruppen ausgezeichnete Fraktion B — deren Hauptanteil die sog. Glycoalbumose bildet — zu isolieren. Doch alle darauf gerichteten Versuche schlugen fehl. Sowohl bei Zweidrittel-, als auch bei Totalsättigung der bereits von primären Albumosen befreiten Sponginoselösung fielen identische Produkte aus: eine Differenz im Schwefelgehalte ergab sich nicht, die Reaktion nach Molisch war jedesmal in gleicher Weise äußerst intensiv. Ich muß es deshalb späteren Untersuchungen, welche methodologische Fragen für die Deuterosponginosen speziell werden beantworten müssen, zu entscheiden überlassen, ob das in großer Menge auftretende Produkt ein einheitliches ist, oder ob sich nicht doch noch eine im wesentlichen kohlehydratreiche Gruppe aus ihm wird isolieren lassen. Jedoch sei hier schon bemerkt, daß für das Vorhandensein eines Gemenges zweier oder mehrerer Deuterosponginosen bis jetzt kein Anzeichen wahrgenommen werden konnte.

Die Deuterosponginose C, welche nach Entfernung von A und B aus der schwach angesäuerten totalgesättigten Lösung ausfallen sollte, fehlt vollkommen.

Ich beschreibe im Folgenden die Deuterosponginose zweier Darstellungen und zwar einmal diejenige, welche durch Versetzen der halbgesättigten Lösung mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung gewonnen wurde (I. und II.), dann die, welche bei Totalsättigung ausfiel (III. und IV.). Der sich bildende Niederschlag unterscheidet sich schon äußerlich von den primären Produkten: er scheidet sich, vollkommen erst nach 24stündigem Stehen, als brauner Syrup ab; bei Totalsättigung bilden sich ganz geringe Mengen gallertiger Überzüge auch an der Flüssigkeitsoberfläche. Zur Reinigung der Substanz löste ich dieselbe, nachdem sie auf Ton gut abgepreßt worden war, in wenig Wasser und setzte die Lösung einige Tage der Dialyse aus. Sodann brachte ich die Lösung wieder etwa auf ihren ursprünglichen Konzentrationsgrad und fraktionierte nochmals mit Ammonsulfat. Dies wiederholte ich dreimal. Nun schritt ich zur Fällung mit Alkohol: es zeigte sich, daß die Deuterosponginose sich in verdünntem Alkohol mit großer Leichtigkeit löste und selbst noch bei Zusatz eines bedeutenden Überschusses 95 %igen Alkohols als Syrup ausfiel. Um die Substanz in fester Form zu erhalten, mußte ich ihre sehr konzentrierte Lösung in absoluten Alkohol eingießen. Ehe dies geschah, wurde die Schwefelsäure durch Barytfällung entfernt, der Barytüberschuß mit Ammonkarbonat gefällt, letzteres durch Aufkochen und Eindampfen verjagt und eventl. gebildete Ammonsalze der Albumose durch Hinzufügen von Essigsäure zerstört. Nachdem durch etwa 14tägige Dialyse vor fließendem und destilliertem Wasser alle Verunreinigungen entfernt waren, wurde die stark eingeengte Flüssigkeit langsam in absoluten Alkohol eingegossen: die Deuterosponginose schied sich in hellen Flocken ab, welche mit absol. Alkohol und Äther gewaschen, im Vakuum und schließlich bei 100° getrocknet wurden. — Die Ausbeute an Deuterosponginose übertrifft diejenige an Heterosponginose um mehr als das Doppelte. —

Von den Reaktionen der Deuterosponginose ist besonders der außerordentlich starke Ausfall der Reaktion nach *Molisch* bemerkenswert; schon geringe Spuren der Substanz geben mit α-Naphtol und konz. Schwefelsäure Violettfärbung. Die Biuretreaktion fällt schön violett aus, die Xanthoproteinreaktion ist positiv, die Schwefelbleiprobe unsicher, die Jodprobe schwach positiv. Die Alkaloidreagentien rufen in der Lösung Niederschläge hervor. Keine Säure bewirkt eine Fällung. —

Die Analysen beziehen sich, wie schon gesagt, auf zwei Darstellungen der Deuterosponginose I—II und III—IV. Der Aschegehalt ist nicht kleiner als der der beiden anderen Sponginosen; die Asche enthält wenig Eisen; eine Spur Phosphorsäure konnte ich darin nachweisen.

	I.	II.	III.	IV.
	(A.)		(B.)	
C =	47,5	47,6	48,0	47,8
H =	6,7	6,7	6,8	6,7
N =	15,3	—	14,8	—
S =	0,47	—	0,44	—
J =	0,17	—	0,20	—
Asche =	1,3	—	1,6	—

Um den deutlichen Beweis für das Vorhandensein einer Kohlehydratgruppe — auf welche ja der Ausfall der Reaktion nach Molisch hinwies — zu erbringen, zersetzte ich die Deuterosponginose nach einem von *O. v. Fürth* angegebenen Verfahren, welches auch *E. P. Pick* zur Spaltung seiner Glycofibrinose angewandt hat. 2 g Deuterosponginose wurden in 25 ccm Wasser gelöst und mit 10 %iger Salzsäure $1^1/_2$ Stunden auf dem Sandbade unter Rückflußkühlung gekocht. Nach Verdünnung der braunen Lösung auf einem Säuregehalt von etwa 3 % wurden mit Phosphorwolframsäure alle basischen Produkte ausgefällt. Filtrat und Waschwasser des Niederschlags wurden sodann mit neutralem Bleiacetat versetzt und aus der farblosen Lösung durch Ammoniak das Kohlehydrat niedergeschlagen. Dieser Niederschlag wurde

in Wasser suspendiert, mit Schwefelwasserstoff entbleit und das Filtrat zum Syrup eingedampft. Derselbe zeigte das Vorhandensein der Kohlehydratgruppe durch eine intensive Reaktion nach Molisch, durch Reduktion Fehlingscher Lösung und ammoniakalischer Silberlösung deutlich an. Ein Osazon ließ sich jedoch nicht gewinnen. Ich habe noch, um einen eventl. Tyrosingehalt festzustellen, die nach Abscheidung des Bleiniederschlags verbleibende Lösung eingedampft und den Rückstand, aus welchem etwas Leucin auskristallisierte, mit dem Millonschen Reagens geprüft: auch hier fiel die Probe negativ aus.

D. Die Rückstände der Säurebehandlung, das „Jodospongin".

Wie schon erwähnt, gibt die hydrolytische Flüssigkeit nach Totalsättigung vollkommen die Reaktionen einer echten Peptonlösung. Auch Spuren von Jodwasserstoff ließen sich in ihr nachweisen. —

Das Spongin löste sich, wie bereits bemerkt, unter der Einwirkung der siedenden verdünnten Mineralsäure nicht vollständig auf. Bei mehrmaligem Säurewechsel wurde allerdings der Rückstand stets weniger, allein er verschwand nie vollkommen. Ich habe nun eine ganze Reihe von Versuchen angestellt, um diesen Rückstand zu charakterisieren, denn es lag die Vermutung nahe, daß man es hier mit einem melaninartigen Produkt, ähnlich dem Jodospongin *Harnacks* oder der Spongomelanoidinsäure *Rosenfelds*, zu tun habe. Die genannten Produkte sind ausgezeichnet durch ihren hohen Jodgehalt und entstammen wohl, wie auch *Schmiedebergs* Melanoidine, einer besonders resistenten Gruppe des Eiweißmoleküls. Für ihre Einheitlichkeit jedoch ist ebensowenig bis jetzt ein vollgültiger Beweis erbracht worden, wie für die der normalen, pathologischen oder künstlichen Melanine. Auch mir gelang es nicht, die gedachten Produkte bei verschiedenen Darstellungen als völlig gleiche Körper zu erhalten, und es drängt sich uns bei Betrachtung der weit von einander abweichenden analytischen Daten die Überzeugung auf, daß

solche Substanzen für eine rationelle Erforschung des Eiweiß- bezw. Albuminoidmoleküls überhaupt unbrauchbar sind.

Die braunen Flocken des Rückstandes wurden, nachdem sie sorgfältig mit Wasser ausgewaschen worden waren, in 15 %iger Kalilauge gelöst und mit verdünnter Schwefelsäure gefällt. Schon hier machte sich eine auffallende Erscheinung geltend: die Ausfällung war bei keinem Versuche vollständig, sondern das Filtrat blieb rotbraun gefärbt. Da ich nun schon Erfahrungen über die Abspaltung von Albumosen beim Spongin gemacht hatte, nahm ich eine solche auch hier an und fand diese Annahme im vollen Umfange bestätigt: die Lösung gab eine schöne Biuretreaktion, eine starke Fällung beim Sättigen mit Ammonsulfat, eine Fällung mit verdünnter Salpetersäure und Niederschläge mit den Alkaloidreagentien; auch war sie stets jodhaltig. Bei näherer Prüfung zeigte es sich, daß neben der die Molisch-Reaktion gebenden Deuterosponginose hauptsächlich Heterosponginose abgespalten worden war, was schon darauf hindeutete, daß diese letztere, bezw. ein Umwandlungsprodukt derselben, in ursächlichem Zusammenhang mit der Bildung jener Melaninprodukte stehen müsse. Wenn ich vor der Ausfällung der «Melanin»körper die alkalische Lösung nur kurze Zeit auf Wasserbadtemperatur gebracht hatte, so machte sich bei Säurezusatz eine Schwefelwasserstoffentwicklung bemerkbar: auch dies zeigt die Anwesenheit der schwefelreichen Heterosponginose an. Ich habe nun die Umfällung der Substanzen aus alkalischer Lösung zuerst mit Schwefelsäure, dann mit Essigsäure so lange vorgenommen, bis keine Albumosen mehr im Filtrat nachweisbar waren. Schließlich löste ich die nun sehr geringe Menge des (in einigen Fällen ziemlich hell gefärbten) Materials in Ammoniak und fällte mit Essigsäure. Die Substanz wurde dann durch Dialyse salzfrei gemacht. Auch *Harnack* hätte die Bildung von Albumosen beobachten müssen, denn er schreibt in seiner Veröffentlichung über das Jodospongin:

«Die Substanz . . . löst sich leicht in Alkalien und ist aus dieser Lösung durch Neutralisieren (wenn auch nicht

ganz ohne Verluste) fällbar.» Ich habe bei einer Wiederholung der Harnackschen Versuche die gleiche Beobachtung gemacht wie bei meinen eigenen Präparaten: allerdings traten bei ersteren die Albumosen in viel geringerer Menge auf als bei mir, weil ja Harnacks Zersetzungsmethode (38 %ige Schwefelsäure) bedeutend durchgreifendere Umwandlungen hervorruft und wohl geeignet ist, die endgültig bleibende resistente Gruppe von noch unveränderten Albumoseanteilen fast völlig zu befreien. Dasselbe gilt für *Rosenfelds* Methode; dagegen glaube ich, daß man bei Anwendung einer $^1/_2$ %igen Mineralsäure überhaupt nicht erwarten darf, jodospongin-artige Produkte in größerer Menge zu erhalten.

Übrigens sei bemerkt, daß *Harnack* sein Jodospongin nur zwei- bis dreimal aus alkalischer Lösung umfällte, während ich diese Prozedur mit meinen Präparaten etwa sechsmal habe vornehmen müssen.

Die Reaktionen, welche *Harnack* für sein Jodospongin angibt, stimmen auch für meine Produkte; doch möchte ich hinzufügen, daß ich bei der Destillation eines solchen «Jodospongins» mit Salzsäure eine Furfurolreaktion (Rotfärbung von Anilinacetatpapier) erhielt. —

Der Körper, dessen Analysenzahlen ich angeben will, stammt aus Kakospongin-Material. Die Ausbeute war sehr gering.

		Harnack.	*Rosenfeld.*
C	= 44,64	45,01	50,62
H	= 5,83	5,95	6,53
N	= 11,96/11,6	9,62	12,3
S	= 0,58	6,29?	0,98
J	= 3,67	8,20	4,86
Asche	= 1,91.		

Ich habe zum Vergleich die Analysenzahlen von *Harnack* und *Rosenfeld* neben die meinen gestellt, und es geht daraus — von der Differenz im Kohlenstoffgehalt abgesehen[1] —

[1] Vergl. hierzu noch eine spätere Angabe («Ergebnisse») über ein C-reicheres, N-ärmeres Produkt.

hervor, daß mein Präparat eine Ähnlichkeit mit *Rosenfelds* Spongomelanoidin besitzt. In einem einzigen Falle erhielt ich aus Euspongienmaterial nach langandauernder Säureeinwirkung ein dunkelgefärbtes Produkt, welches einen Jodgehalt von 8,15 % aufwies.[1]

Sowohl an meinen Substanzen, wie an Jodospongin nach *Harnack* stellte ich Spaltversuche mit konz. Barytwasser an, um zu einer einfachen jodhaltigen Gruppe zu gelangen, jedoch ohne Erfolg.

E. Die alkalische Spaltung des Spongins.

Angeregt durch Versuche, welche *Paal* mit nativem Eiweiß angestellt hat, habe ich das Spongin auch einer alkalischen Spaltung unterworfen. Das Material wurde mit einer 1 %igen Kalilauge 8 Stunden lang auf dem Wasserbad rückflußkühlend erhitzt. Nachdem fast die ganze Substanz sich mit braunroter Farbe gelöst hatte, wurde filtriert und die Lösung auf Fällbarkeit mit verschiedenen Säuren geprüft; dabei ergab sich, daß durch Mineralsäuren ein im Überschuß des Fällungsmittels löslicher Niederschlag entsteht, durch Essigsäure dagegen ein in dieser Säure unlöslicher Körper abgeschieden werden kann. Die hellbraune Substanz ist in reinem Wasser unlöslich, gibt die Biuretreaktion, die Reaktion nach *Molisch*, eine schwache Schwefelbleireaktion und eine sehr schwache Jodreaktion. Sie wurde zur Reinigung 14 Tage dialysiert und dann zur Analyse gebracht.

C =	50,3	50,30
H =	7,5	7,8
N =	15,75	
S =	0,79	
J =	0,21	
Asche =	1,3.	

[1] Analyse:

Asche	1,7 %
Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1577 g
Gewogen Ag. J	0,0237 g
J	0,0129 g
J in Prozenten	8,15.

Aus dem essigsauren Filtrat konnte durch Alkohol in großem Überschuß eine Substanz ausgefällt werden, welche einen merkwürdigerweise sehr niedrigen Kohlenstoffgehalt ergab:

$$C = 43{,}1 \qquad H = 7{,}6.$$

Ihre weitere Untersuchung unterblieb, weil ich in ihr offenbar ein Gemisch von Albumosen und Peptonen in Händen hatte.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die alkalische Zersetzung das Jod abspaltet. Von Interesse ist aber, daß der durch Essigsäure fällbare Körper einen so hohen Kohlen- und Stickstoffgehalt aufweist und die Reaktion nach Molisch deutlich zeigt; seines im Gegensatze zur Deuterosponginose hohen Schwefelgehaltes wegen, sowie auf Grund seiner Fällbarkeit durch Essigsäure und Löslichkeit in Mineralsäure ist vielleicht der Schluß zulässig, daß hier eine der resistenten Heterosponginose verwandte, aber noch einen (amidierten?) Kohlehydratkomplex enthaltende Gruppe vorliegt.

F. Die Zersetzung mit überhitztem Wasserdampf.

Den Versuch, das Spongin durch Erhitzen mit Wasser unter Druck zu zersetzen, nahm ich hauptsächlich deshalb vor, weil ich noch einen sicheren Anhaltspunkt dafür gewinnen wollte, ob die Tyrosinreaktion beim Spongin nur ausbleibt infolge einer Halogensubstitution in diesem Kern. *Blum* und *Vaubel* haben nachgewiesen, daß Tyrosin, in dem die beiden Ortho- oder Metastellungen zur Hydroxylgruppe durch Halogen substituiert sind, die Millonsche Reaktion nicht mehr gibt; durch Erhitzen mit Wasser unter Druck haben die genannten Autoren dann wieder das Tyrosin halogenfrei erhalten können. Auch *Harnack* hat beobachtet, daß bei dem gleichen Verfahren aus dem Spongin alles Jod abgespalten wird. Diese Angaben benützend, habe ich Spongin einen Tag lang im Autoklaven unter 2 Atmosphären Druck erhitzt. Es trat eine Lösung ein, an der ich feststellen konnte, daß sie durch Kochsalzsättigung nur in sehr geringem Maße, fast vollständig dagegen bei Zusatz von

Salzsäure gefällt wird. Es hatte sich also eine Atmidsponginose gebildet. Sowohl die Lösung dieser Atmidsponginose, als auch das noch Peptone enthaltende Filtrat wurden mit dem Millonschen Reagens geprüft: in jedem Falle blieb die Tyrosinreaktion vollkommen aus. Damit glaube ich eine weitere Sicherheit erlangt zu haben dafür, daß das Tyrosin im Spongin — wenigstens im Euspongin — fehlt, daß also eine andere Gruppe (vielleicht Phenylalanin) die Funktion der Jodbindung ausüben muß. —

Die übrigen Eiweißreaktionen waren bei dieser Zersetzungsflüssigkeit die gleichen, wie bei den vorher beschriebenen. —

Ergebnisse der Sponginuntersuchung.

Fassen wir die Resultate vorstehender Versuche kurz zusammen, so können wir folgendes aussagen:

1. In der Einwirkung einer sehr verdünnten Mineralsäure besitzen wir eine Methode, welche es gestattet, das Spongin in Albumosen zu zerlegen. Die auftretenden Albumosen lassen sich ähnlich wie die durch Peptonisierung nativer Eiweißkörper gewonnenen Produkte mit Hilfe des Trennungsverfahrens von *E. P. Pick* von einander scheiden. Es treten, durch ihr reaktionelles Verhalten und ihre analytischen Daten unterschieden, drei «Sponginosen» auf und zwar:

die Heterosponginose,
die Protosponginose und
eine Deuterosponginose,

ferner Peptone, sowie ein gegen weitere Säureangriffe widerstandsfähiger Körper.

2. Die Heterosponginose zeigt alle Eigenschaften einer echten Heteroalbumose; sie ist als solche charakterisiert durch ihre Fällbarkeit durch Ammonsulfat bei Halbsättigung, ihre Unlöslichkeit in Alkohol, ihre leichte Umwandlung in die unlösliche Dysalbumose und ihre Fällbarkeit durch Salpetersäure. Ganz analog den künstlich jodierten Fibrinosen fällt sie aus alkalischer Lösung auf Zusatz von Essigsäure. Sie

überwiegt die Protosponginose beträchtlich an Menge. Diese letztere unterscheidet sich von ihr, abgesehen von ihrer Zusammensetzung, durch ihre Löslichkeit in verdünntem Alkohol und ihre Nichtfällbarkeit durch Salpetersäure. — Die Heterosponginose ist vor den anderen beiden Sponginosen besonders durch ihren hohen Jod- und Schwefelgehalt ausgezeichnet; sie muß demnach als der eigentliche unveränderte halophore Komplex des Spongins angesehen werden. In diesem Punkte unterscheidet sich das Spongin wesentlich von einem anderen natürlichen Jod-Eiweißkörper, dem Tyreoglobulin der Schilddrüse: *Oswald* fand dessen Heteroalbumose jodfrei.

3. Der Schwefelgehalt der Heterosponginose ist im Verhältnis zum Ausgangsmaterial hoch gefunden worden, und es wäre deshalb in diesem Falle der Heteroalbumose auch die Rolle der Thioalbumose zuzugestehen. Dies stimmt zu der Annahme *Harnacks*, daß das Jod nur von den schwefelhaltigen Gruppen im Sponginmolekül aufgenommen werde; allein der relativ niedrige Kohlenstoffgehalt der Heterosponginose, welcher durch den Eintritt von 4,7 % Jod nicht erklärt werden kann, schließt die Vermutung nicht aus, daß trotz aller Umfällungen aus alkalischer Lösung die Heterosponginose doch noch — wenn auch wahrscheinlich nur geringe Mengen — schwer abtrennbarer Sulfatgruppen enthält. Auf einem für die völlig freie Heterosponginose zu niedrig gefundenen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt deuten die für die Proto- und Deuterosponginose sich ergebenden höheren Zahlen[1]. Übrigens sei hierzu bemerkt, daß *Oswald* bei seinen Studien über jodierte

[1] Zur Erklärung des niederen Kohlenstoffgehaltes könnte auch eine durch die oxydative bezw. hydrolytische Wirkung der Schwefelsäure herbeigeführte Abspaltung eines kleinen kohlenstoffreichen Komplexes herangezogen werden. Doch könnte ein solcher Eingriff keinesfalls sehr weitgehend gewesen sein, da das Produkt immer noch vollkommen alle Eigenschaften einer Heteroalbumose zeigt. Hierzu vergleiche die Ausführungen über den niederen Kohlenstoffgehalt aller Keratinosen.

Albumosen des Fibrins an den Jodfibrinosen einen sehr verminderten Kohlenstoffgehalt feststellen konnte; seine Zahlen, welche für die Heterofibrinose ein Weniger von 1,3 % gegenüber den übrigen Fraktionen ergaben, sind für

Jodprotalbumose:	Jodheteroalbumose:
C = 46,55	45,22
H = 5,72	5,59

also mit den meinen wohl vergleichbar. — Der genannte Autor fand, daß auch der Schwefelgehalt der Jodfibrinosen sehr hoch ist; es läßt sich also — wenn selbst die von mir gefundene Schwefelzahl etwas zu hoch sein sollte[1] — doch mit ziemlicher Sicherheit sagen, daß Schwefel- und Jodgehalt in der Heterosponginose in einem bestimmten Zusammenhange stehen, daß überhaupt die schwefelhaltigen Gruppen im Eiweiß für die Jodaufnahme in erster Linie in Betracht kommen, d. h. daß *Harnack* mit der oben angeführten Behauptung im Rechte ist, wenn auch das von ihm postulierte Verhältnis der prozentualen Mengen von Schwefel zu Jod wie 1:2 für meine Heterosponginose nur sehr annäherungsweise zutrifft. —

4. Die Deuterosponginose ist ausgezeichnet durch ihre starke Reaktion nach Molisch, sie ist also der eigentliche kohlehydratführende Komplex des Spongins. Sie enthält sehr wenig Schwefel und fast gar kein Jod. Ihrer Menge nach stellt sie den größten Teil des Sponginmoleküls dar. Jedoch scheint die Deuterosponginose nicht die einzige kohlehydrathaltige Gruppe des Spongins zu sein: auch die Protosponginose gibt, wenn auch schwächer, die Reaktion nach Molisch und der nicht entschieden negative Ausfall dieser Reaktion bei der Heterosponginose deutet wohl an, daß auch diese letztere nicht ganz frei von Kohlehydratgruppen ist.

[1] Die Hauptmenge des Schwefels muß sich auf jeden Fall in der Heterosponginose vorfinden, da die Schwefelzahlen für die beiden anderen Sponginosen sehr klein sind und den hohen Schwefelgehalt des «Jodospongins» nicht erklären könnten (vergl. über Entstehung der Jodospongine).

5. Wenn wir uns eine ungefähre Vorstellung von dem Aufbau des Spongins machen wollen, so können wir auf Grund der bisherigen Beobachtungen annehmen: das Spongin enthält die «Hemi»gruppe, von der die Protosponginose abstammt, in kleinster Menge, dagegen besteht es in der Hauptsache aus einer «Anti»gruppe (Heterosponginose), welche die Funktion der Jodaufnahme übernimmt, den größten Teil des Schwefels enthält und mit dem dritten Anteil, der kohlehydratführenden Gruppe (Deuterosponginose), in Verbindung steht. Daß eine nahe Beziehung der Antigruppe des Spongins zur Kohlehydratgruppe vorhanden ist, geht wohl aus der Bildung eines resistenten schwefelhaltigen Produktes bei der Alkalispaltung, welches bei hohem Kohlen- und Stickstoffgehalt die Reaktion nach Molisch gibt, hervor. Wie oben schon bemerkt, dürfte auch der Heterosponginose diese Reaktion nicht völlig fehlen, und schließlich sei die Beobachtung angeführt, daß alle von mir untersuchten Jodospongine eine positive Furfurolreaktion (Kochen mit Salzsäure etc.) zeigten. Dieser letztere Punkt führt uns

6. zu der Frage nach der Entstehung der Jodospongine überhaupt. Vergleicht man die Jodzahlen für

Heterosponginose	= 4,5—4,7
Jodospongin-Harnack	= 9,01
Spongonmelanoidin-Rosenfeld	= 4,86

miteinander, so muß es sofort auffallen, daß *Harnacks* Zahl fast genau das Doppelte der von mir für die Heterosponginose gefundenen darstellt, während *Rosenfeld* eine (im Verhältnis zum Kohlenstoffgehalt) etwas geringere Jodmenge fand. Ferner ist zu beachten, daß *Harnacks* (II.) Schwefelbestimmung auch ungefähr die doppelte Menge der meinigen ergeben hat, und daß auch diejenige von *Rosenfeld* eine Zahl lieferte, welche etwa der Gesamtmenge des im Spongin enthaltenen Schwefels entspricht. Schließlich sei darauf hingewiesen, daß ich für zwei jodosponginähnliche Körper einmal (bei schwächerer Säureeinwirkung) einen Jodgehalt von 3,67 %, ein anderes Mal (bei starker Säureeinwirkung) sogar von 8,15 % erhielt. Da nun die beiden anderen Sponginosen

weder für so hohe Jod- noch Schwefelmengen in Betracht kommen können und nur die resistente Heterosponginose solche Zahlen aufweist, so darf angenommen werden, daß die letztere die Muttersubstanz der Jodospongine ist. Man könnte annehmen, daß *Harnacks* Produkt etwa aus zwei Molekülen derselben durch eine Art von Anhydridbildung, hervorgerufen durch die starke (38 %) Schwefelsäure, und unter Abspaltung eines größeren kohlenstoff- und stickstoffreichen, schwefel- und jodarmen Komplexes hervorgegangen ist. Bei einer Darstellungsweise, wie sie *Rosenfeld* anwandte (12 % Salzsäure in der Siedehitze), konnte jedoch eine derartige «Verdoppelung» nicht bewirkt werden, und so finden wir denn in seinem Spongomelanoidin ein Produkt, welches seinem Jodgehalt entsprechend direkt aus einem Molekül Heterosponginose unter Abspaltung von Stickstoff, Schwefel und wenig Jod gebildet wurde. Mit Bezug auf den Kohlenstoffgehalt des Rosenfeldschen Präparates, welcher den des Spongins selbst übertrifft, wäre zu vermuten, daß auch die Kohlehydratgruppe hier in die Melaninbildung einbezogen worden sei; auch ich habe bei einem Jodosponginpräparat die Zahlen

$$C = 50{,}9 \qquad H = 7{,}4$$
$$N = 9{,}6$$

gefunden[1]. Die Schwankungen im Stickstoffgehalte dagegen scheinen von der Dauer der Säureeinwirkung und von der

[1] Analytische Belege:

Asche: Angewandte Substanz . .	0,0532 g
Gewogene Asche	0,0009 g
Asche in Prozenten . . .	1,7
Kohlenstoff und Wasserstoff:	
Angewandte Substanz (aschefrei) .	0,1422 g
Gewogen CO_2	0,2612 g
» H_2O	0,0928 g
In Prozenten C	50,9
» » H	7,4
Stickstoff:	
Angewandte Substanz (aschefrei) .	0,1334 g
Abgelesen No	11,9 ccm
b = 716 mm t = 18°	
N in Prozenten	9,6.

Konzentration der Säure abzuhängen; *Harnack* berichtet (nach privaten Mitteilungen) über ein Jodospongin *Baumanns*, welcher auch «für den Stickstoff etwas höhere Werte bekommen hat».

7. Über denjenigen einfachen Kern, welcher in der komplizierten Heterosponginose selbst das Jod enthält, läßt sich bis jetzt nur die Vermutung aussprechen, daß derselbe jedenfalls nicht in dem Tyrosin, sondern viel eher in einer dem Phenylalanin ähnlichen Substanz zu suchen ist. Doch sind es höchst wahrscheinlich nicht nur aromatische, sondern auch aliphatische Komplexe, welche Jod aufnehmen; darauf läßt die Entstehung von Jodoform bei der Hydrolyse schließen. —

Untersuchung des Keratins.[1]

Die Methode der Albumosengewinnung durch Einwirkung verdünnter Mineralsäure habe ich auch auf zwei der sogenannten Keratingruppe angehörige Substanzen angewandt und zwar auf das Keratin des Ochsenhorns, welches im eigentlichen Sinne diesen Namen verdient, und auf das Schalenhautkeratin der Hühnereier, das «Ovokeratin», von dem bereits *Mörner* aus bestimmten Gründen angenommen hat, daß es kein echtes Keratin sei. Die Trennung der Albumosen wurde auch hier wieder nach *Pick* vorgenommen. Die Fragen, welche ich mir für diese Untersuchungen vorlegte, waren:

1. Steht diese Albuminoidgruppe zu den Eiweißkörpern in anderer Beziehung als das Albuminoid der Spongien?
2. Ist der Tyrosinreichtum des echten Keratins ein tatsächliches Charakteristikum desselben?
3. Besitzen die schwefelreichen Keratine eine oder mehrere Thioalbumosen?

[1] Diese Versuche habe ich in Gemeinschaft mit Herrn Dr. *E. Siemering* ausgeführt, der dieselben an anderer Stelle eingehender beschreiben wird. (Dissertation München, S.-S. 1904.)

...RARY ... THE ...VERSITY OF CALIFORNIA

4. Worin ist das Ovokeratin vom Keratin unterschieden?
5. Läßt sich aus dem gefärbten Keratin ein Melanin gewinnen?

Die von mir angewandte Methode hat sich nun tatsächlich für die Entscheidung genannter Fragen bewährt.

1. Untersuchung des Ochsenhornkeratins.

Wir betrachten zunächst die bei der Hydrolyse des Ochsenhorns entstehenden Produkte.

Die sehr fein geraspelten Hornspäne wurden durch aufeinanderfolgendes mehrfaches Digerieren mit verdünnter Säure und sehr verdünntem Alkali in der Kälte gereinigt, und sodann ein Versuch gemacht, durch peptische Verdauung anhaftendes natives Eiweiß zu entfernen; es hat sich dabei gezeigt, daß selbst nach tagelanger Einwirkung von Pepsinsalzsäure keine albumoseartige Substanz abgespalten werden konnte. Das sorgfältig gewaschene Material wurde nun zur Hydrolyse gebracht.

Die angewandte Schwefelsäure war 1%ig; die Einwirkung einer $^1/_2$%igen Säure verläuft zu langsam. Auch eine 2%ige Säure ist noch sehr gut brauchbar; stärkere Konzentrationen anzuwenden, empfiehlt sich nicht, da die bald eintretende tiefere Färbung des Hydrolysats den Beginn weiterer Zersetzung anzeigt. Das hellgelbe Hydrolysat wurde aus drei- bis viermal gewechselter Zersetzungsflüssigkeit[1] gewonnen, von dem dunkelgefärbten, melaninartigen Rückstande abfiltriert, mit Ammoniak neutralisiert und auf dem Wasserbade eingeengt.

In einigen Fällen wurde die Beobachtung — aber nur bei dem Keratin des Ochsenhorns — gemacht, daß beim Zusatz von Ammoniak bei noch saurer Reaktion eine Fällung eintrat, die sich wieder löste, dann bei weiterem Zusatz von Ammoniak wieder erschien u. s. f. Diese Erscheinung nahm auch *Goldschmidt* an nativen Eiweißlösungen wahr; sie dürfte mit einer Acidalbuminbildung im Zusammen-

[1] Die Zersetzung erfolgte bei schwachem Sieden während 6 Stunden.

hang stehen (vergleiche *Cohnheim*, Chemie der Eiweißkörper). Die Fällung und Trennung der primären Keratinosen geschah, genau wie dies für das Spongin beschrieben wurde, nach *Pick*. Hier wurde aber in allen Fällen die Schwefelsäure durch Barytfällung sorgfältig entfernt, sodaß wir die nun zu beschreibenden Produkte als freie Keratinosen ansprechen dürfen.

A. Die Heterokeratinose.

Die Keratinoselösung wurde auf Halbsättigung mit Ammonsulfat gebracht, durch Auswaschen und mehrfaches Umfällen von den Nachbarfraktionen getrennt und die beiden in Form weißer großer Flocken ausfallenden primären Keratinosen in möglichst konzentrierter wässeriger Lösung mit dem doppelten Volumen 95%igen Alkohols versetzt: nach zirka 24stündigem Stehen hatte sich die Heterokeratinose vollkommen abgeschieden. Dieses Produkt, welches eine starke Neigung zur Dysalbumosebildung zeigte, wurde durch Umfällung, Barytfällung und Dialyse gereinigt und nach Auswaschen mit Alkohol und Äther im Vakuum dann bei 110° getrocknet. Von einem Nachdunkeln der Heterokeratinose an der Luft war nichts zu bemerken. Das Präparat behielt seine rein weiße Farbe bei. In ihrem reaktionellen Verhalten zeigte die Heterokeratinose im Gegensatz zu der Heterofibrinose einen stark positiven Ausfall der Millonschen Reaktion. Sonst ergab sich vollkommene Ähnlichkeit mit den Heteroalbumosen nativer Eiweißkörper:

Positive Biuretprobe, positive Xanthoproteïnreaktion, Fällbarkeit mit Salpetersäure, völlig negativer Ausfall der Reaktion nach Molisch etc. Die Schwefelbleiprobe war auffallend intensiv. Die analytischen Daten für die Heterokeratinose sind die folgenden:

	I.	II.	III.
C	= 46,8	46,9	47,25
H	= 6,64	6,7	6,91
N	= 13,85	—	14,04
S	= 3,39	3,1	3,51.

Die Substanz erwies sich bis auf kleinste Spuren aschefrei. Die Heterokeratinose stellt ihrer Quantität nach den größten Anteil des Keratinosegemisches dar.

B. Die Protokeratinose.

Aus dem alkoholischen Filtrat der Heterokeratinosefällung wurde in der für die Protosponginose bereits beschriebenen Weise die Protokeratinose gewonnen. Sie stellte ein weißes, wenig hygroskopisches Pulver dar, welches mit Ausnahme der Fällbarkeit durch Salpetersäure der Heterokeratinose vollkommen glich, auch darin, daß die Millonsche Reaktion und die Schwefelbleiprobe sehr intensiv ausfielen.

Diese Keratinose gleicht in ihrem Verhalten dem alkohollöslichen Anteil der durch Halbsättigung mit Ammonsulfat fällbaren Protoalbumose des Fibrins. Ihrer Menge nach steht sie bedeutend hinter der Heterokeratinose zurück. Bei der Analyse ergaben sich folgende Zahlen:

	I.	II.
C =	47,28	47,03
H =	7,08	6,51
N =	13,58	13,75.
S =	2,8	

C. Die Deuterokeratinosen A und B.

Aus dem Keratinosengemisch ließen sich zwei Deuteroalbumosen isolieren; auch hier fehlte, wie beim Spongin, die Deuteroalbumose C vollkommen. Das von den beiden primären Keratinosen befreite Filtrat wurde auf Zweidrittel-Sättigung gebracht: es trat eine Trübung auf, welche sich nach zwei Tagen als am Gefäßboden festhaftender Niederschlag abschied. Reinigung, Entfernung der Schwefelsäure durch Baryt und Trocknung erfolgte ebenso wie bei der Protokeratinose. Die Ausbeute war stets gering. Die Reaktionen der Deuterokeratinose A sind dieselben, wie die der primären alkohollöslichen Fraktion; auch hier ist die

Millonsche Reaktion, die Biuretprobe, die Schwefelbleiprobe sehr stark, die Reaktion nach Molisch fällt negativ aus. Eine eigentliche Thioalbumose liegt in dieser Fraktion nicht vor; der Schwefelgehalt differiert nicht wesentlich von dem der anderen Keratinosen. Der Hauptunterschied der Deuterokeratinose A von der Protokeratinose liegt — abgesehen von den ganz geringen analytischen Differenzen — in ihrer Nichtfällbarkeit bei Halbsättigung mit Ammonsulfat und in ihrer höheren Löslichkeit in Alkohol. Die Probe nach Molisch ergibt einen wesentlichen Unterschied von der Deuterokeratinose B.

Die bei der Analyse gefundenen Werte sind:

	I.	II.
C	= 46,78	46,92
H	= 6,49	6,55
N	= 13,75	13,85.
S	= 3,51	

Aus dem Filtrat der Deuterokeratinose A fiel bei Totalsättigung mit Ammonsulfat eine Deuterokeratinose B aus. Dieselbe setzte sich zum größten Teil in Krusten an der Flüssigkeitsoberfläche ab und wurde nach mehrfachem Umfällen, Entfernen der Schwefelsäure und Trocknen als rein weißes Pulver erhalten. Charakteristisch für diese Fraktion ist der sehr stark positive Ausfall der Reaktion nach Molisch, welcher darauf hinweist, daß wir hier — geradeso, wie dies bei den Fibrinosen der Fall ist — die Fraktion in Händen haben, in welcher die Kohlehydratgruppe lokalisiert ist. In den übrigen Reaktionen zeigt diese Keratinose keine Unterschiede von den anderen Fraktionen.

Die Analysen ergaben:

	I.	II.
C	= 45,79	45,81
H	= 7,12	7,28
N	= 12,59	12,98
S	= 2,9	3,15.

Sehr auffallen muß es, daß diese Deuterokeratinose in ihrem Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt gegenüber den übrigen Keratinosen ein Weniger von etwa 1% aufweist, dabei aber denselben Schwefelgehalt wie diese besitzt. Ob die Annahme gerechtfertigt ist, daß ein Teil dieser Glycoalbumose (welche der allgemeinen Ansicht nach ein primäres Produkt ist) für die Bildung des relativ schwefelarmen melaninartigen Körpers verwandt worden ist, läßt sich vorerst noch nicht mit Sicherheit entscheiden.

D. Das Keratomelanin.

Bei der Säurebehandlung des braungefärbten Ochsenhornes hinterblieb ein in Säure völlig unlöslicher schwarzbraun gefärbter Rückstand; derselbe wurde noch einige Zeit mit 3- und 4%iger Säure in der Wärme digeriert, schließlich säurefrei gewaschen und, da in ihm ein Melanin zu vermuten war, in folgender Weise weiter behandelt: die Masse wurde in 15%iger Kalilauge unter schwachem Erwärmen auf dem Wasserbade gelöst, durch Glaswolle filtriert und mit verdünnter Schwefelsäure wieder ausgefällt. Hierbei trat dieselbe Erscheinung auf, welche ich bereits gelegentlich der Rückstände der Sponginzersetzung beschrieben habe, nämlich eine hier allerdings beträchtlich intensivere Schwefelwasserstoffentwicklung und ein weiteres Ablösen biuretgebender Albumose- bezw. Keratinosegruppen. Lösung und Fällung wurden so lange fortgesetzt, bis beide Erscheinungen ausblieben. Der Rückstand, ein im trockenen Zustande tiefschwarzes Pulver, wurde zuletzt noch einmal aus ammoniakalischer Lösung durch Essigsäure ausgefällt und der Dialyse unterworfen. Die Substanz gab weder eine Biuret- noch Tyrosin- (Millon-) noch Schwefelbleiprobe; sie löste sich ziemlich leicht in Alkohol und konnte daraus durch viel Wasser wieder gefällt werden. Dieses «Keratomelanin» ergab bei der Analyse folgende Werte:

	I.	II.
C =	61,08	61,3
H =	5,51	5,7
N =	11,57	11,95
S =	2,72	2,4

Asche = 1,67.

2. Untersuchung des Ovokeratins.

Ehe zu einer Gewinnung von Ovokeratinosen aus dem Schalenhautkeratin der Hühnereier geschritten werden konnte, war es nötig, das Material behufs Entfernung allen anhaftenden Eiweißes einer gründlichen Reinigung zu unterwerfen. Zu diesem Zwecke kam das Verfahren in Anwendung, welches *Lindwall* beschrieben hat; allerdings habe ich dasselbe noch an einigen Punkten verstärkt, indem ich die Digestion mit verdünnter Lauge bezw. Säure acht Tage lang mit jeden Tag erneuerter Lösung bei Zimmertemperatur unterhielt. Das reine Material zeigt die Biuretreaktion in einer sehr schönen Weise, wenn man die dünnen Blättchen des Ovokeratins mit 15%iger Kalilauge einige Minuten digeriert und zwei Tropfen Kupfersulfatlösung hinzufügt. Die Blättchen nehmen dann eine prachtvolle rotviolette Farbe an. Mit Millons Reagens erhitzt, färbte sich das Ovokeratin gelb; eine typische Tyrosinreaktion ließ sich nicht feststellen.

Bei der Zersetzung durch ½%ige Schwefelsäure machte sich schon ein Unterschied zwischen Ovokeratin und echtem Keratin geltend: ersteres löste sich bereits nach eintägigem Sieden in der sehr verdünnten Säure mit gelbroter Farbe ohne den geringsten Rückstand auf.

Nach der Neutralisation der Lösung mit Ammoniak — wobei kein Niederschlag auftrat — wurden die allgemeinen Proben auf Albumosen ausgeführt, wobei die besonders starke Fällung durch Salpetersäure auffiel, und dann in bekannter Weise zur Trennung der Ovokeratinosen vorgegangen. Bei Halbsättigung der Lösung fiel ein Niederschlag in großer Menge aus, welcher auf Hetero- und Proto-Ovokeratinose verarbeitet wurde. Es sei hier erwähnt, daß

diese beiden Ovokeratinosen den Hauptanteil der Gesamtkeratinosen ausmachten. Die Ausbeuten an Deutero-Ovokeratinosen — auch hier fehlte die Fraktion C — waren sehr gering, besonders für A leider durchaus ungenügend.

A. Hetero- und Proto-Ovokeratinose.

Der aus dem Hydrolysat durch Halbsättigung mit Ammonsulfat fällbare Albumoseanteil ließ sich, wie zu erwarten, in einen Alkohol-unlöslichen, die Hetero-Ovokeratinose, und einen Alkohol-löslichen, die Proto-Ovokeratinose, zerlegen. Umfällung und Reinigung geschah genau ebenso, wie dies für die vorher beschriebenen Keratinosen angegeben wurde. Die Hetero-Ovokeratinose zeigte nun in ihrem ganzen Verhalten derart von den übrigen Albumosen, besonders den Keratinosen, abweichende Eigenschaften, daß ich glaube, diese für das Ovokeratin als besonders bezeichnend ansehen zu dürfen. Selbst nach fünfmaligem Umfällen mit Ammonsulfat war an ihr noch keine Spur einer Dysalbumosebildung zu bemerken, ihre Wasserlöslichkeit blieb nach wie vor sehr groß. Wurde eine konzentrierte Lösung von Hetero-Ovokeratinose mit dem doppelten Volumen 95%igen Alkohols versetzt, so fiel der Körper, nicht wie die Heterosponginose oder die Heterokeratinose, in Flocken, sondern in Form einer gelbbraunen Gallerte aus, welche erst in fester Form als heller sandiger Niederschlag durch Eingießen der syrupösen Lösung in absoluten Alkohol erhalten werden konnte. Die Substanz gab sämtliche Reaktionen der Heteroalbumosen, jedoch fiel die Salpetersäure-Fällung auffallend stark aus, die Millonsche Probe war vollkommen negativ; letzteres ist ein typisches Unterscheidungsmoment zwischen Ovokeratin und echtem Keratin. Essigsäure bewirkte Lösung der Ovokeratinose, dagegen fiel sie auch bei Zusatz von verdünnter Salzsäure aus; auch verdünnte Schwefelsäure, vorsichtig zugesetzt, rief Fällung hervor, welche sich jedoch im Überschuß der Säure sofort wieder löste. Es sei darauf hingewiesen, daß diese Fällbarkeit durch alle Mineralsäuren auch den Atmidalbumosen zukommt.

Die Ergebnisse der Elementaranalyse waren:

	I.	II.
C =	45,71	46,10
H =	7,22	7,15
N =	12,93	12,58
S =	1,91	2,26.

Die alkohollösliche Proto-Ovokeratinose, in bekannter Weise isoliert und gereinigt, bildete ein schneeweißes, leichtes Pulver, welches — mit Ausnahme der Millonschen Reaktion — alle Albumosereaktionen zeigte. Durch Mineralsäuren wurde diese Substanz nicht gefällt. Ihre Zusammensetzung ist die folgende:

	I.	II.
C =	45,63	45,75
H =	6,64	6,70
N =	12,10	12,40
S =	1,91	— .

B. Die Deutero-Ovokeratinosen.

Trotzdem cirka 100 Gramm Ovokeratin in Verarbeitung genommen werden konnten, waren doch die Ausbeuten an Deutero-Ovokeratinosen sehr gering. Jedoch gelang die Feststellung einiger wichtiger qualitativer Tatsachen. Durch Zweidrittelsättigung mit Ammonsulfat wurde eine sehr kleine Menge einer Deutero-Ovokeratinose A abgeschieden. Sie gab eine starke Schwefelbleiprobe, die Millonsche Probe fiel auch hier vollkommen negativ aus, bei der Probe nach Molisch zeigte das Reaktionsgemisch nur einen schwachen Gelbstich. Die übrigen Reaktionen verliefen normal. — Eine etwas bessere Ausbeute lieferte die Totalsättigung mit Ammonsulfat: es wurde eine Deutero-Ovokeratinose B zur Abscheidung gebracht, welche nach dem Reinigen und Trocknen ein weißes, nicht hygroskopisches Pulver darstellte und sich in ihrem reaktionellen Verhalten von den drei anderen Ovokeratinosen dadurch unterschied, daß sie eine sehr starke Reaktion nach Molisch zeigte.

Die Millonsche Reaktion fiel wieder völlig negativ aus. Demnach gleicht das Ovokeratin dem echten Keratin darin, daß es in derselben Albumosegruppe, wie dieses, eine Kohlehydratgruppe enthält. Eine Analyse, bei der aus Mangel an Material leider eine Schwefelbestimmung nicht ausgeführt werden konnte, ergab:

C = 45,15
H = 7,26
N = 12,91.

Die nach dem Ausfällen aller Albumoseanteile verbleibende Lösung zeigte hier — wie auch beim echten Keratin — die Reaktionen einer Peptonlösung, besonders durch die rote Farbe der Biuretreaktion, die Fällbarkeit mit Lugolscher Lösung und mit Phosphorwolframsäure.

Ergebnisse der Keratinuntersuchung.

Die vergleichende Untersuchung des Keratins und des Ovokeratins haben also ergeben:

1. Keratin und Ovokeratin werden durch Einwirkung verdünnter Mineralsäure in der Wärme aufgespalten in die beiden

«primären» Anteile:
Heterokeratinose bezw. Hetero-Ovokeratinose
und
Protokeratinose bezw. Proto-Ovokeratinose,
ferner in die
Deuterokeratinose bezw. Deutero-Ovokeratinose A
und die
Deuterokeratinose bezw. Deutero-Ovokeratinose B.

Außerdem entstehen durch Ammonsulfat nicht fällbare Peptone. Ein Albumoseanteil C fehlt hier ebenso, wie beim Spongin; doch während dieses nur eine Deuteroalbumose geliefert hat, lassen sich die Deuteroalbumosen der beiden Keratinsubstanzen in zwei wohl unterscheidbare Fraktionen A und B zerlegen. Diese Tatsache scheint dafür

zu sprechen, daß die Keratinsubstanzen den echten Eiweißkörpern näher stehen als das Spongin, in welchem die Kohlehydratgruppe nicht, wie bei diesen, auf einen scharf charakterisierten Komplex beschränkt ist.

2. Der Umstand, daß bei beiden Keratinsubstanzen die Kohlehydratgruppe an der durch die gleiche Fällungsgrenze charakterisierten Stelle nachweisbar ist, und zwar auch an der Stelle, wo sie sich beim Fibrin findet, zeigt eine engere Verwandtschaft beider mit echtem Eiweiß deutlich an. Eine solche ist ja auch schon aus dem Grunde wahrscheinlich, weil die «Keratine» direkt aus intaktem Eiweiß, beziehungsweise durch Umwandlung der Zelle selbst, entstehen, während das Spongin nur extracytär gebildet wird.

3. Da die sämtlichen Keratinosen einen gleich hohen Schwefelgehalt aufweisen, so darf man schließen, daß zur Bildung des Keratins nicht etwa eine einzige Thioalbumose, d. h. eine besonders schwefelreiche Gruppe des Zelleiweißes herangezogen wird, sondern daß im Sinne *Drechsels* ein allgemeiner Austausch von Sauerstoff gegen Schwefel, bezw. eine weitgehende Einwanderung von Cystingruppen stattfinden muß.

Auffallend ist der niedrige Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt aller Keratinosen und Ovokeratinosen. Bei letzterer erscheint auch der Schwefelgehalt gegenüber dem des Ausgangsmaterials bedeutend vermindert.[1] Dies zeigt ein Vergleich mit dem für die Ausgangsmaterialien gefundenen Analysenzahlen:

1. Ochsenhorn (nach *Hinterberger*, *v. Bibra*):
C = 50,8 %, H = 6,6 %, N = 16,2 %, S = 3,08 %.

2. Schalenhautkeratin (nach *Lindwall*):
C = 49,78 %, H = 6,64 %, N = 16,43 %, S = 4,25 %.

---

[1] Eine Schwefel- und Stickstoffabspaltung bei der Säurezersetzung selbst ist nie ganz zu verhindern. Man wird also wohl stets bei den Keratinosen kleinere Schwefel- und Stickstoffwerte finden, als bei dem intakten Material.

Aus den vorliegenden analytischen Daten läßt sich für die Albumosen der letzteren Substanz ein bestimmter Schluß betreffs des Schwefelgehaltes noch nicht ziehen.

Beim Ochsenhorn müssen wir annehmen, daß hydrolytisch kohlenstoff- und stickstoffreiche, schwefelarme Gruppen abgespalten worden sind. Wir können dabei an einen dem natürlichen Keratomelanin ähnlichen Komplex denken, da dieses bei sehr hohem Kohlenstoff- einen geringeren Schwefelgehalt aufweist. Es ist jedoch noch die Möglichkeit vorhanden, daß diese Verminderung des Kohlenstoffgehaltes der Keratinosen auf eine bei der Keratinisierung selbst stattfindende oxydative Abspaltung solcher Komplexe hinweist, wodurch ja — neben der oben erwähnten «Substitution» — eine relative Anreicherung an Schwefel herbeigeführt worden sein kann: *Bunge* hat die Ansicht geäußert, die Albuminoide überhaupt seien die ersten Oxydationsprodukte des Organismus.

4. Das echte Keratin und seine Keratinosen sind ausgezeichnet durch den stets — auch bei der Heterokeratinose — intensiven Ausfall der Millonschen Reaktion, also durch ihren Reichtum an Tyrosin. Auch hier können wir uns vorstellen, daß — besonders in der Heterokeratinosegruppe — ein Austausch gewisser Kerne gegen die hydroxylierte aromatische Gruppe stattgefunden hat. Im vollen Gegensatz hierzu finden wir beim Ovokeratin nirgends eine Andeutung tyrosinartiger Gruppen. Diese Tatsache ist vielleicht nicht ohne biologische Bedeutung. In den meisten echten (tyrosinreichen) Keratinen finden sich die unter dem Namen «Melanine» bekannten Farbstoffe. Aus vielen Untersuchungen wissen wir, daß gerade die Tyrosingruppe durch oxydierende Agentien (z. B. Oxydasen) in solche Farbstoffe übergehen kann. Ein Zusammenhang zwischen Tyrosinreichtum und Anhäufung von Melaninen (in den Haaren und Hufen)[1] ist deshalb gewiß nicht ausge-

[1] Vergl. dazu eine Bemerkung von *List*, Biolog. Zentralblatt, Bd. X (1890), pag. 32.

schlossen. Auch bei vorliegender Untersuchung gelang es, ein solches Melanin zu isolieren. Dagegen bildet das Ovokeratin kein natürliches Melanin, es enthält auch keine hydroxylierte aromatische Gruppe, wenigstens sicher kein Tyrosin.

5. Echtes Keratin und Ovokeratin sind völlig verschiedene Substanzen: dies ergibt sich aus dem Fehlen des Tyrosins bei letzterem und aus dem Verhalten der Hetero-Ovokeratinose bei der Abscheidung und bei der Fällung durch Mineralsäuren. Es ist also unrichtig, beide Substanzen in dieselbe Gruppe der Albuminoide einzuordnen.[1] Der den beiden Substanzen gemeinsame — wenn auch nicht gleiche — hohe Schwefelgehalt genügt noch nicht, Keratin und Ovokeratin als identische Produkte aufzufassen.

[1] Vergl. dazu *Mörners* Untersuchungen.

Schlußbemerkungen.

Am Schlusse dieser Darlegungen angelangt, möchte ich noch einmal darauf hinweisen, daß der Grundgedanke meiner Untersuchungen war, durch Zerlegung einiger Albuminoide in ihre möglichst genau isolierten «Albumosen» zu einer schärferen Charakteristik derselben zu gelangen. Die Ausführung dieses Vorhabens wurde ermöglicht durch die Methode der Spaltung mit sehr verdünnter Mineralsäure; die Trennungsmethode von *Pick* hat sich auf die hierbei gewonnenen Produkte sicher anwenden lassen. Dieser letztere Punkt wird bewiesen: 1. durch die scharfe Abtrennung dreier Heteroalbumosen, welche an erster Stelle zur Kennzeichnung der Ausgangsmaterialien[1] herangezogen werden können, und 2. durch den Nachweis zweier «Glycoalbumosen» bei den beiden Keratinsubstanzen an richtiger Stelle.

Als wichtigste Ergebnisse möchte ich hervorheben:

1. Den Nachweis der Lokalisation von Jod und Schwefel in der Heterosponginose und die sich daraus für die Aufklärung der Jodosponginfrage vorläufig ergebenden Folgerungen.

2. Die Auffindung einer Heteroalbumose beim Ovokeratin, welche Eigenschaften besitzt, die von denen der bisher bekannten Heteroalbumosen abweichen.

[1] Beim Spongin und Ovokeratin.

Vielleicht ist die Hoffnung nicht ungerechtfertigt, daß die durch meine Untersuchungen aufgeworfenen Fragen — über den Schwefelgehalt der Heterosponginose, über die Einheitlichkeit der Deuterosponginose, über die Abnahme des Kohlenstoff- und Stickstoffgehaltes bei den Albuminoid-Albumosen etc. — sich durch geeignete Änderungen der Methoden werden erledigen lassen, daß ferner eine vergleichende Bestimmung der Stickstoffverteilung, sowie der totale Abbau der einzelnen Albumosen Aufklärung über den feineren Bau dieser Albuminoide (bei der Heterosponginose speziell über die eigentliche jodbindende Gruppe, ihre Beziehung zu den «Jodosponginen») geben werden und daß es schließlich gelingen wird, auf dem eingeschlagenen Weg auch für andere Albuminoide wichtige Resultate bezüglich ihrer Entstehung und Zusammensetzung aufzufinden.

———— * ————

Anhang.

Analytische Belege zu den Produkten der Spongin-untersuchung.

1. Heterosponginose. I. Asche:

Angewandte Substanz . .	0,3516 g.
Asche in g	0,0122 g.
Asche in Prozenten . . .	3,39 (3,4).

Kohlenstoff und Wasserstoff:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,2112 g.
Gewogen CO_2	0,3504 g.
» H_2O . . .	0,1210 g.
In Prozenten C . . .	45,2.
» » H . . .	5,9.

Stickstoff:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1115 g.
Abgelesen N	12,9 ccm.
b = 715 mm t = 20°.	
N in Prozenten . . .	12,4.

Schwefel:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,4269 g.
Gewogen Ba SO_4 . . .	0,0578 g.
» S . . .	0,00793 g.
S in Prozenten . . .	1,88.

Jod:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1883 g.
Gewogen Ag J . . .	0,0160 g.
» J . . .	0,0086 g.
J in Prozenten . . .	4,56.

II. Asche: Angewandte Substanz . . 0,1401 g.
Asche in g . . . . 0,0012 g.
Asche in Prozenten . . 0,85.

Kohlenstoff und Wasserstoff:
Angewandte Substanz (aschefrei) 0,2105 g.
Gewogen CO_2 . . . . 0,3487 g.
» H_2O . . . 0,1115 g.
In Prozenten C . . . 45,18.
» » H . . . 5,8.

Stickstoff:
Angewandte Substanz (aschefrei) 0,1986 g.
Abgelesen N . . . . 23,8 ccm.
b = 716 mm t = 19°.
N in Prozenten . . . 12,96.

Schwefel:
Angewandte Substanz (aschefrei) 0,5005 g.
Gewogen $BaSO_4$ . . . 0,0703 g.
» S . . . 0,0096 g.
S in Prozenten . . . 1,9.

Jod:
Angewandte Substanz (aschefrei) 0,1609 g.
Gewogen Ag J . . . 0,0140 g.
» J . . . 0,0076 g.
J in Prozenten . . . 4,7.

III. Asche: Angewandte Substanz . . 0,0806 g.
Asche gewogen . . . 0,0015 g.
Asche in Prozenten . . . 1,86.

Kohlenstoff und Wasserstoff:
Angewandte Substanz (aschefrei) 0,2043 g.
Gewogen CO_2 . . . . 0,3418 g.
» H_2O . . . 0,0991 g.
In Prozenten C . . . 45,62.
» » H . . . 5,38.

Stickstoff:
Angewandte Substanz (aschefrei) 0,0981 g.
Abgelesen N . . . . 12 ccm.
b = 713 mm t = 22 ccm.
N in Prozenten . . . 12,97.

Schwefel:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,3093 g.
Gewogen Bag O_4 . . .	0,0407 g.
» S in g . . .	0,0056 g.
S in Prozenten . . .	1,81.

Jod:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1448 g.
Gewogen Ag J . . .	0,0130 g.
» J in g . . .	0,0070 g.
J in Prozenten . . .	4,7.

2. Protosponginose. I. Asche:

Angewandte Substanz . .	0,1235 g.
Asche gewogen . . .	0,0014 g.
In Prozenten	1,1.

Kohlenstoff und Wasserstoff:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1571 g.
Gewogen CO_2	0,2701 g.
» H_2O	0,0989 g.
In Prozenten C . . .	46,8.
» » H . . .	6,9.

Stickstoff:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1512 g.
Abgelesen N	18 ccm.
b = 715 mm	t = 20°.
N in Prozenten . . .	12,7.

Jod:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1423 g.
Gewogen Ag J . . .	0,0013 g.
» J in g . . .	0,0007 g.
J in Prozenten . . .	0,49.

II. Asche: Angewandte Substanz . . 0,0864 g.

Asche gewogen . . .	0,0012 g.
Asche in Prozenten . .	1,3.

Kohlenstoff und Wasserstoff:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1564 g.
Gewogen CO_2	0,2666 g.
» H_2O . . .	0,0978 g.
In Prozenten C . . .	46,4.
» » H . . .	6,9.

Stickstoff:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1230 g.
Abgelesen N	14 ccm.
b = 717 mm t = 18°.	
N in Prozenten . . .	12,4.

Schwefel:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1809 g.
Gewogen Ba SO_4 . . .	0,0063 g.
» S in g . . .	0,0009 g.
S in Prozenten . . .	0,49.

Jod:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1428 g.
Gewogen Ag J . . .	0,0012 g.
» J in g . . .	0,00064 g.
J in Prozenten . . .	0,44.

3. Deuterosponginose. I. Asche:

Angewandte Substanz . .	0,2553 g.
Asche gewogen . . .	0,0033 g.
Asche in Prozenten . . .	1,3.

Kohlenstoff und Wasserstoff a:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,2179 g.
Gewogen CO_2	0,3793 g.
» H_2O . . .	0,1319 g.
In Prozenten C . . .	47,5.
» » H . . .	6,7.

Kohlenstoff und Wasserstoff b:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,2205 g.
Gewogen CO_2	0,3849 g.
» H_2O . . .	0,1336 g.
In Prozenten C . . .	47,6.
» » H . . .	6,7.

Stickstoff:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1152 g.
Abgelesen N	16,8 ccm.
b = 718 mm t = 22°.	
Stickstoff in Prozenten . .	15,3.

Schwefel:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,3520 g.
Gewogen Ba SO_4 . . .	0,0122 g.
» S in g . . .	0,00167 g.
S in Prozenten . . .	0,47.

Jod:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,3847 g.
Gewogen Ag J . . .	0,0013 g.
» J in g . . .	0,0007 g.
J in Prozenten . . .	0,17.

II. Asche:

Angewandte Substanz . .	0,3130 g.
Asche gewogen . . .	0,0052 g.
Asche in Prozenten . .	1,6.

Kohlenstoff und Wasserstoff a:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1765 g.
Gewogen CO_2	0,3108 g.
» H_2O . . .	0,1081 g.
In Prozenten C . . .	48,0.
» » H . . .	6,8.

Kohlenstoff und Wasserstoff b:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1783 g.
Gewogen CO_2	0,3125 g.
» H_2O . . .	0,1088 g.
In Prozenten C . . .	47,8.
» » H . . .	6,7.

Stickstoff:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1707 g.
Abgelesen N	24,0 ccm.
b = 714 mm	t = 20°.
N in Prozenten . . .	14,8.

Schwefel:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,3647 g.
Gewogen Ba SO_4 . . .	0,0116 g.
» S in g . . .	0,00159 g.
S in Prozenten . . .	0,44.

Jod:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,4883 g.
Gewogen Ag J . . .	0,0025 g.
» J in g . . .	0,0010 g.
J in Prozenten . . .	0,20.

4. Das Jodospongin-ähnliche Produkt. Asche:

Angewandte Substanz . .	0,0882 g.
Asche gewogen . . .	0,0017 g.
Asche in Prozenten . . .	1,91.

Kohlenstoff und Wasserstoff:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1914 g.
Gewogen CO_2	0,3033 g.
» H_2O . . .	0,1004 g.
In Prozenten C . . .	44,64.
» » H . . .	5,83.

Stickstoff:

a) Angewandte Substanz (aschefrei) 0,1480 g.
Abgelesen N . . . . 16,15 ccm.
b = 722 mm t = 18°.
N in Prozenten . . . 11,96.

b) Angewandte Substanz (aschefrei) 0,1864 g.
Abgelesen N . . . . 20 ccm.
b = 715 mm t = 19°.
N in Prozenten . . . 11,6.

Schwefel:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,3214 g.
Gewogen Bag. O_4 . . .	0,0136 g.
» S in g . . .	0,0019 g.
S in Prozenten . . .	0,58.

Jod: Angewandte Substanz (aschefrei) 0,1306 g.
Gewogen Ag J . . . 0,0090 g.
» J in g . . . 0,0048 g.
J in Prozenten . . . 3,67.

5. Produkte der alkalischen Zersetzung des Spongins.

I. Asche:

Abgewandte Substanz	0,0390 g	0,2380 g.
Asche gewogen .	0,0005 g	0,0030 g.

Asche in Prozenten 1,3 (abgerundet) 1,3.

Kohlenstoff und Wasserstoff:

a) Angewandte Substanz (aschefrei) 0,1236 g.
Gewogen CO_2 . . . . 0,2283 g.
» H_2O . . . 0,0876 g.
In Prozenten C . . . 50,3.
» » H . . . 7,8.

b) Angewandte Substanz (aschefrei) 0,1490 g.
Gewogen CO_2 . . . . 0,2750 g.
» H_2O . . . 0,1007 g.
In Prozenten C . . . 50,3.
» » H . . . 7,5.

Stickstoff:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1200 g.
Abgelesen N	17,1 ccm.
b = 719 mm	t = 17,5°.
N in Prozenten . . .	15,75.

Schwefel:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,7327 g.
Gewogen $BaSO_4$ . . .	0,0428 g.
» S in g . . .	0,0059 g.
S in Prozenten . . .	0,79.

Jod:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,1415 g.
Gewogen Ag J . . .	0,0006 g.
» J in g . . .	0,0003 g.
J in Prozenten . . .	0,21.

II. Kohlenstoff und Wasserstoff:

Angewandte Substanz (aschefrei)	0,2037 g.
Gewogen CO_2	0,3222 g.
» H_2O . . .	0,1403 g.
In Prozenten C . . .	43,1.
» » H . . .	7,6.

Asche:

Angewandte Substanz . .	0,1630 g.
Gewogene Asche . . .	0,0021 g.
Asche in Prozenten . .	1,28.

NB. Die analytischen Belege zu den Keratin-Untersuchungen wird Herr *Dr. E. Siemering* veröffentlichen.

Literaturverzeichnis.

Abderhalden, E., und *Schittenhelm, A.*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 293 (1904).
Anderlini, Atti di R. Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti, (6) 5, 311 (1867).
Apolant, H., Engelmanns Archiv f. Physiol. 183 (1901).
Bary, de, Med.-chem. Unters. v. Hoppe-Seyler, Heft 1, 73 (1866).
Bastow und *Appleyard*, Chemiker-Zeitung 12, 209 (1888).
Bauer, B., Zeitschrift f. physiol. Chem. 35, 343 (1902).
Beaumont, W., Über den Magensaft, übers. v. B. Luden, Leipzig 113 (1834).
Berg, Eb., Zeitschr. f. physiol. Chem. 25, 337 (1898).
Bibra, von, Ann. Chem. Pharm. 96, 289 (1855).
Bleunard, Compt. rend. 89, 953 u. 90, 612.
Blondlot, Traité analyt. de la digestion, Paris et Nancy 288 (1843).
Blum und *Vaubel*, Zeitschr. f. prakt. Chem., N. F., Bd. 56, 393 (1897); ebenda 57, 365 (1898).
Bolley, Journ. f. prakt. Chem. 93, 347 (1864); ebenda 108, 364 (1869).
Braconnot, Ann. Chim. Phys. (2) 13, 114 (1820).
Buzzi, Monatshefte f. prakt. Dermatologie, Hamburg 7, 761 u. 8, 1; 149 ff.
Chevalier, J., Zeitschr. f. physiol. Chem. 10, 97 (1885).
Chittenden, R. H., und *Solley, F. P.*, Journ. of Physiol. 12, 23 (1891).
— — Americ. Journ. of Physiol. 2, 176 (1899).
Chittenden, R. H., und *Hart, A. S.*, Zeitschr. f. Biol. 25, 368 (1889).
Chittenden, R. H., Untersuch. a. d. Physiol. Inst. Heidelberg 3, 171 (1879).
Cohn, R., Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 395 (1899).
Cohnheim, O., Chem. d. Eiweißkörper, Braunschweig (1900).
Cramer, E., Journ. f. prakt. Chem. 96, 76 (1865).
Crookewitt, Annal. Chem. Pharm. 48, 43 (1843).
Dastre, A., et *Floresco, N.*, Arch. de Phys. norm. et pathol. 27, 701 (1895).
Dörpinghaus, Th., Diss., Berlin (1902): Hydrolyse des Horns.
Drechsel, E., Ladenburgs Handwörterb., Bd. III, 569 ff. (1885).
— Zeitschr. f. Biol. 33, 90 (1896).
— Zentralbl. f. Physiol. 11, 361.
Dubois, Compt. rend. 111, 206 (1890).

Durrwell, Bull. de la Soc. chimique, Paris (N. S.) 19, 447 (1873).
Emmerling, Verh. d. Ges. deutsch. Naturforscher u. Ärzte (II) 2, 391 (1894).
Engel, W., Zeitschr. f. Biol. 27 (N. F. 9), 374 (1890); ebenda 28, 345 (N. F. 10) (1891).
Erlenmeyer und *Schöffer*, Journ. f. prakt. Chem. 80, 357 (1860).
Etzinger, Zeitschr. f. Biol. 10, 84.
Ewald, A., Zeitschr. f. Biol. 26, 1 (1890).
Fahrion, W., Chem. Zeitung 19, 1000 (1895).
Faust, E. S., Schmiedebergs Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. 41, 309 (1898).
Fede, Henle und Meißners Ber. 164 (1868).
Fischer, C. S., Zeitschr. f. physiol. Chem. 19, 164 (1894).
Fischer, E., Arch. f. Anat. u. Physiol., Abt. Phys. 265 (1891).
Fischer, E., und *Skita, A.*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 177 (1901) u. 35, 221 (1902).
Fischer, E., und *Levene* und *Aders*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 70 (1902).
Fischer, E., Berichte d. deutsch. Chem. Ges. 35, 2660 (1902).
— 74. Versamml. deutsch. Naturforscher u. Ärzte, Karlsbad (1902).
Frémy, E., Compt. rend. 39, 1053.
— Journ. f. prakt. Chem. 64, 263 (1854).
— Annal. de Chim. (3) 43, 96 (1855).
Frerichs, Wagners Handwörterb. der Physiol. III, Th. 1. 811, 856.
Friedmann, E., Hofmeisters Beiträge 2 (1902).
Fürth, Otto von, Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere, Jena (1903).
Gäthgens, C., Zeitschr. f. physiol. Chem. 1, 299 (1877).
Gmelin, Lehrbuch von Gmelin-Kraut, 4. Aufl., Bd. 4, 2296.
— Berzelius' Lehrbuch d. Chem., übers. v. Wöhler, Bd. 4, Abt. 1, 671. Dresden (1831).
Goldschmidt, F., Diss.: Säuren u. Eiweiß. Straßburg (1898).
Gonnermann, M., Pflügers Arch. f. Physiol. 59, 42 (1895).
Gorup-Besanez, von, Ann. Chem. Pharm. 66, 321.
Goudoever, L. C. von, Ann. Chem. Pharm. 45, 62 (1843).
— Journ. f. prakt. Chemie 31, 316.
Green, E. H., und *Tower, R. W.*, Zeitschr. f. phys. Chem. 35, 196 (1902).
Griffith, Compt. rend. 115, 320.
— Bull. Acad. royale Belge (3) 24, 592 (1892).
Hammarsten, O., Lehrbuch der phys. Chem. Wiesbaden (1899).
Harnack, E., Münch. med. Wochenschr. 43, 196 (1896).
— Zeitschr. f. phys. Chem. 24, 412, 198.
Hart, Zeitschr. f. phys. Chem. 33, 358 (1901).
Hausmann, W., Zeitschr. f. phys. Chem. 27, 95 (1899).
Hedenius, J., Skandinav. Arch. f. Physiol. 3, 244 (1891).

Hedin, S. G., Zeitschr. f. phys. Chem. 20, 186 (1894).
Henze, Zeitschr. f. phys. Chem. 38, 60 (1903).
Heyl, Annal. Chem. Pharm. 62, 87.
Hilger, A., Berichte der deutsch. chem. Ges. 6, 165 (1873).
Hinterberger, Ann. Chem. Pharm. 71 u. 82, 252.
Hofmeister, F., Zeitschr. f. phys. Chem, 2, 299 (1878).
— Ergebnisse der Biochemie I, 793 (1902).
Holmgren, T. F. von, Malys Jahresbericht 23, 360 (1893) (Referat).
Horbaczewski, J., Sitzungsbericht der Wiener Akademie 80, math.-nat. Cl., Abt. II (Juni 1879).
— Zeitschr. f. phys. Chem. 6, 330 (1882).
— Monatshefte f. Chem. 6, 639 (1885).
Hundeshagen, Zeitschr. f. angewandte Chem. 473 (1895).
Kerkhoff, van, Scheik. Onderz., Deel II, pag. 347 (zit. nach Schloßberger).
Kirchner, Zeitschr. f. rationelle Medizin, III. Reihe, Bd. 14, 311.
Klug, F., Pflügers Arch. f. Phys. 48, 100 (1891).
Knies, M., Unters. a. d. physiol. Inst. Heidelberg I, 114 (1877).
Kossel, A., Zeitschr. f. physiol. Chem. 15, 331 (1891).
Kossel, A., und *Kutscher, F.*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 203, 205 (1901).
— — Zeitschr. f. physiol. Chem. 25, 551 (1898).
Kost, H., Diss. Würzburg (1853).
Kreußler, Journ. f. prakt. Chem. 107.
Krukenberg, F. C. W., Vergleichende physiol. chem. Studien, I. u. II. Reihe (1881, 1882).
— Grundzüge einer vergleichenden Physiologie der tierischen Gerüstsubstanzen. Heidelberg (1885).
— Mitteilungen aus der zoologischen Station Neapel 6, 286 (1885).
— Verhandl. der physikalisch-medizinischen Ges. zu Würzburg. (N. F.) N. 3 (1883).
— Berichte der deutsch. chem. Ges. 17, 1843 (1884).
— Ebenda 18, 989 (1885).
— Vorträge (1886).
— Fortgesetzte Unters. über Skeletine. Zeitschr. f. Biol. 22, pag. 241 (1886).
— Ebenda, weitere Mitteil. über Hyalogene, 261.
— Jenaische Zeitschr. f. Naturwissensch. 20, Supl. 39 ff. (1887).
Krüger, B., Zeitschr. f. physiol. Chem. 38 (1903).
Kühne, W., Lehrbuch der physiol. Chem. 356. Leipzig (1866).
Kühne, W., und *Ewald, A.*, Verhandlungen des naturhist.-mediz. Vereins Heidelberg, N. F. I, 457 (1876).
Kühne, W., und *Ewald, A.*, Untersuch. a. d. physiol. Inst. Heidelberg 1, 220 (1877).
Kühn, W., und *Chittenden, R. H.*, Zeitschr. f. Biol. 26, 291 (1890).
Lažr, J. F. J. von, Ann. Chem. Pharm. 45, 147 (1843).

Lašr, J. F. J. von, Pharm. Centralbl. 188 (1843).
Lavini, Memorie della R. Acad. delle Scienze di Torino 38, 111 (1835).
Lehmann, Lehrb. der physiol. Chem., 2. Teil. Leipzig (1853).
Leuckart, Wiegmanns Arch. f. Naturgesch., 18. Jahrg., Bd. I, 25 (1852).
Levene, P. A., Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 99 (1904).
Liebreich, O., Arch. f. mikroskop. Anat. 40, 320 (1893).
Lindwall, V., Malys Jahresber. 11, 38 (1881) (Referat).
— Biol. Centralbl. 2, 61 (1882—1883).
List, Biol. Centralbl. 10, 32 (1890).
Lönnberg, Ing., Malys Jahresber. 19, 325 (1889) (Referat).
Ludwig, H., Annal. Chem. Pharm. 68, 366 (1848).
— Arch. d. Pharm. 64, 142.
Leydig, Müllers Arch. 303 (1854).
Leyer und *Köller*, Annal. Chem. Pharm. 83, 336.
Lidow, Journ. der russ. phys.-chemisch. Ges. I, 280 (1884), vergl. Malys Jahresber. 14, 32.
Maly, R., Monatshefte f. Chem. 10, 26 (1889).
Meißner, Henle und Meißners Berichte, 236 (1859).
Mendel, L., Americ. Journ. of Physiol. IV, 243.
— Physiol. Centralblatt 14, 531 (1900).
Mensonides, Nederl. Lancet, IV. Jahrg. 694, 709 (1848—49).
Metzler, Beiträge zur Lehre v. d. Verdauung d. Leims. Gießen (1860).
Mörner, C. T., Skandin. Arch. f. Physiol. 1, 210, 234 (1889).
— Zeitschr. f. physiol. Chem. 18, 61 (1893).
— Zeitschr. f. physiol. Chem. 18, 213, 233 (1893).
— Ebenda 24, 125 (1897).
— Ebenda 28, 471, 595 (1899).
— Ebenda 34, 232.
Mohr, P., Zeitschr. f. physiol. Chem. 20, 400 (1894).
Morochowetz, Petersburger mediz. Wochenschr. 3 (1878).
— Verdauungsgesetze. Malys Jahresberichte 271 (1886).
— Verh. d. Heidelberger Naturh.-Med. Ver., N. F. I, 480 (1876).
Müller, A., Diss. Berlin (1836).
— Wiegmanns Arch. f. Naturgesch., 3. Jahrg., Bd. I, 1 (1837).
Müller, Joh., De Glandularum structura, pag. 39, zit. n. Schloßberger.
— Annal. Chem. Pharm. 21, 277 (1837).
Müller, W., Zeitschr. f. rationelle Mediz., III. Reihe, Bd. 10, Heft 2.
Mulder, Lehrbuch der physiol. Chem. 556.
— Scheik. Underz., Deel I, p. 540, zit. nach Schloßberger.
— Erdmanns Journ., Bd. 19, 189, zit. nach Schloßberger.
— Poggendorfs Annal. 37, 594 (1836).
— Ebenda 39, 498, 836 u. 40, 253 (1837).
Name, W. G. van, Journ. of experiment. Med. 2, 117 (1897), vergl. Malys Jahresberichte 27, 34.

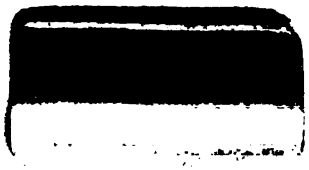
Nasse, O., und *Krüger, A.*, Naturforscher-Ges. zu Rostock, Rostocker Zeitung, Nr. 105 (1899).
Nencki, Über die Zersetzung d. Gelatine u. d. Eiweißes bei Fäulnis mit Pankreas. Bern (1876).
— Berichte der deutsch. chem. Ges. 7 (II), 1593 (1874).
Neri, Atti della Soc. Toscana di Scienze Naturali 10, 56, 118 (1896).
Neumeister, R., Lehrbuch der physiol. Chem., I. Teil. Jena (1893).
— Zeitschr. f. Biol. 26, 57 (N. F. 8), (1889).
— Ebenda 31 (N. F. 13), 413 (1894).
Oswald, Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 14 (1899).
— Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. III, 391 (1903).
Paal, C., Berichte d. deutsch. chem. Ges. 25, 1202 (1892); 27, 1827 (1894); 31, 956 (1898); 35, 2195 (1902).
Paal, C., und *Schilling*, Chemiker-Zeitung 19, 1487 (1895).
Persoz, Compt. rend. 55, 810 (1862).
Pick, E. P., Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 246 (1898) u. 28, 219 (1899).
— Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. II, 481 (1902).
Piria, Annal. der Chem. Pharm. 82, 241 (1852).
Pohl, J., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. (Schmiedeberg) 25, 39.
Posselt, Annal. d. Chem. u. Pharm. 45, 192 (1843).
Proust, Von Harnack zitiert nach Pereira, Handbuch d. Heilmittellehre, I, 824. Leipzig (1848).
Reich, Zeitschr. f. physiol. Chem. 34, 119 (1902).
Richards und *Gies*, Americ. Journ. of physiol. 7, 93 (1902).
Richardson, Journ. Soc. Chem. Ind. 12, 426 (vergl. Chem. Centralblatt II, 211 [1893]).
Rosenfeld, Schmiedebergs Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. 45, 51 (1900).
Rüling, Annal. Chem. Pharm. 58, 313.
Sadikoff, Wl. S., Journ. russ. phys.-chem. Ges. 36, 86 ff. (Chem. Centralbl. 1903, II, 957; 1904, I.)
Sasse, H. F. A., Untersuch. a. d. physiol. Inst. Heidelberg 2, 433 (1879).
Scharling, Annal. Chem. Pharm. 41, 48 (1842).
Scheermesser, W., Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 68 (1904).
Schenk, S. L., Sitzungsber. Wiener Akad., Bd. 68, I, 363 (1874).
Scherer, J., Annal. Chem. Pharm. 50, 54.
— Ebenda 40, 1; 59 (1841).
Schliefer, Annal. Chem. Pharm. 58, 378 (1846).
Schloßberger, Chemie der Gewebe, Bd. 1. Leipzig u. Heidelberg (1856).
— Journ. f. prakt. Chemie 68, 158 (1856).
— Annal. Chem. Pharm. 98, 99 (1856).
— Lehrbuch d. Tierchemie (1856).
— Ebenda 108, 62 (1858).
— Annal. Chem. Pharm. 110, 245 (1859).
— Kritische Zeitschr. 424 (1860).

Schmidt, C., Zur vergleichenden Physiologie d. wirbellosen Tiere (1845).
Schmiedeberg, O., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. 28, 355 (1891).
— Ebenda 39, 1 (1897).
Schneider, C. K., Lehrbuch der vergleichenden Histologie d. Tiere. Jena (1902).
Schützenberger, M. P., Bull. de la Soc. chim. 23 u. 24 (1875).
Schützenberger, M. P., und *Bourgeois*, Compt. rend. 81, 1191 (1875).
— — Ebenda 82, 262 (1876).
Schützenberger, M. P., Compt. rend. 86. 767.
Schulz, F. N., Die Größe des Eiweißmoleküls. Jena (1902).
Schultze, M., Annal. Chem. Pharm. 71.
Schwarz, H., Zeitschr. f. physiol. Chem. 18, 487 (1893).
Schweder, Henle und Meißners Berichte 291 (1867).
Selhorst, S. B., Diss.: Über das Keratohyalin und den Fettgehalt d. Haut. Berlin (1890).
Selitrenny, L., Monatshefte f. Chem. 10, 908 (1889).
Siegfried, M., Sitzungsberichte d. sächs. Ges. d. Wissenschaft (1892).
— Habilitationsschrift. Leipzig (1892).
Silbermann, Chemiker-Zeitung 17, 1693 (1894). Vergl. Malys Jahresberichte 3 (1894).
Smith, H., Zeitschr. f. Biol. 19, 469 (1883).
Städeler, J., Annal. Chem. Pharm. 16 (1859).
Stenberg, S., Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abt., 105, 181.
Stohmann, F., und *Langbein, H.*, Journ. f. prakt. Chemie (2) 44, 336 (1891).
Strahl, Archiv f. physiol. Heilkunde 332 (1852).
Sukatschoff, B., Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie 56, 377 (1899).
Suter, F., Zeitschr. f. physiol. Chem. 20, 564 (1895).
Tatarinoff, P., Centralblatt f. d. mediz. Wissenschaft, Nr. 16, 275 (1877).
Tebb, Journ. of Physiol. 27, 463.
Im Thurn, Moleschotts Untersuchungen, Bd. 5, 315.
Tichomiroff, A., Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 518, 566 (1885).
Tiedemann und *Gmelin*, Die Verdauung nach Versuchen, Bd. I, 171. Heidelberg u. Leipzig (1826).
Tilanus, Mulders physiol. Chem. (übersetzt v. Völker) 270 u. 595.
Uffelmann, Arch. f. klin. Med. 20, 535.
Valenciennes, Compt. rend. 19, 1142 (1844).
— Ebenda 41, 11 (1855).
Vauquelin, zitiert nach Schloßbergers Tierchemie 1, 288 (1856).
Verdeil, F., Annal. Chem. Pharm. 58, 317 (1846).
Vignon, L., Compt. rend. 113, 802 (1891); 114, 129 (1892); 114, 603 (1892); 115, 442 (1892); 115, 613 (1892).
Vignon, L., und *Sisley*, Ebenda 114, 701 (1892).
Vogel und *Reischauer*, Dinglers polytechn. Journ. 155, 308 (1860).
Voit, C. von, Zeitschr. f. wissensch. Zoologie 10, 158 (1860).

Voit, C. von, und *Bischoff,* Die Gesetze der Ernährung des Fleischfressers 215. Leipzig u. Heidelberg (1860).
Vosmaer, Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreichs, Bd. 2, Teil 1, 435 (1887).
Wälchli, G., Journ. f. prakt. Chem. (N. F.) 17, 71 (1878).
Wagner, Lehrbuch d. vergleichenden Anat. 271 (1835).
Weidel und *Ciamician,* Sitzungsberichte Wiener Akademie 80, 2. Abt. 101.
— Monatshefte f. Chemie 1, 279.
Weiske, Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 460ff. (1883).
Wetzel, G., Centralblatt f. Physiol. 13, 113 (1899).
— Zeitschr. f. physiol. Chemie 26, 535 (1899).
— Ebenda 29, 388 (1900).
Weyl, Berichte der deutsch. chem. Ges. 21, 1407 u. 1529 (1899).
Zalocostas, Compt. rend. 107, 252 (1888).
Zickgraf, G., Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 259 (1904).
Zoja, L., Zeitschr. f. physiol. Chem. 23, 236 (1897).
Zollikofer, H., Annal. Chem. Pharm. 82, 162 (1852).
Zunz, E., Zeitschr. f. physiol. Chem. 28, 132 (1899).

Der experimentelle Teil dieser Arbeit wurde Ostern 1903 in München im Laboratorium des kgl. Instituts für angewandte Chemie unter Direktion des Herrn Obermedizinalrats, Hofrat Prof. Dr. A. Hilger, begonnen und im März 1904 abgeschlossen.

C. F. Winter'sche Buchdruckerei.

Yc110816

BIOLOGY LIBRARY